



TITLE:

京都大学再生医科学研究所年報 2007

AUTHOR(S):

CITATION:

京都大学再生医科学研究所年報 2007. 京都大学再生医科学研究所年報
2008, 10

ISSUE DATE:

2008-03-25

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/65072>

RIGHT:

京都大学

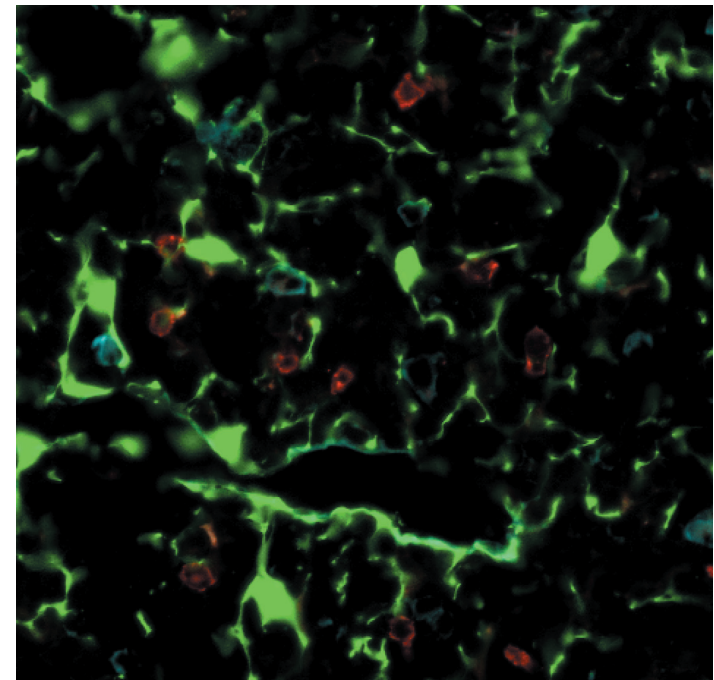
再生医科学研究所年報
(第十卷)

二〇〇七

京都大学

再生医科学研究所年報

Annual Report of the Institute for Frontier Medical Sciences
Kyoto University



〈第10巻〉

2007
平成19年

表紙写真

骨髄内の pDC と CAR 細胞の局在

近年、形質細胞様樹状細胞(pDC)という新しい免疫担当細胞が同定された。pDC は、ウイルス感染における一型インターフェロンの中心的産生細胞であり、抗ウイルス自然免疫、獲得免疫に中心的役割を果たすと考えられている。生体システム制御学分野では、pDC の発生にケモカイン CXCL12 の受容体 CXCR4 が必須であることを明らかにした。成体骨髄の pDC 特異的細胞表面抗原 PDCA-1 を用いた免疫染色を行うと、大部分の PDCA-1+細胞は、CXCL12 を高発現する細胞である CAR 細胞の突起と接着しており、CAR 細胞は pDC のニッチとしても働いていることが示唆された。

1. 巻 頭 言

平成 19 年度は、再生医科学研究所にとっては話題の多い一年でありました。そのひとつは、言うまでも無く、山中研究室によるヒト皮膚由来繊維芽細胞からの胚性幹細胞(ES 細胞)様細胞、即ち iPS 細胞(誘導性多能性幹細胞)の作製です。発生生物学者にとっては、体細胞の初期化が、3, 4 個の遺伝子を強制発現させるだけでかくも簡単に起こるとは大いなる驚きであったろうと思います。細胞の発生・分化の不思議、神秘を思い、その裏にある複雑さに哲学的思索を誘われていた研究者は、あまりの直接的、端的な結果に拍子抜けしたかもしれません。道は遠い、テクテク歩いていくかと思っていた横を、ナナハンのオートバイが轟音とともに通り過ぎようとしている感じ、というのは冗談が過ぎるでしょうか。iPS 細胞の作製は、発生生物学のみならず、再生医学に新しい研究分野を、再生医療に新たな可能性を開くものです。京都大学と国が、今後の iPS 研究の展開を支援するため「iPS 細胞研究センター」の設立を迅速に決定したのは、再生医科学研究所にとっても大いに喜ぶべきことです。センターと研究所の緊密な連携のもと研究が展開することを期待します。

iPS 細胞の作製は、再生医科学研究所の研究者に組織細胞の分化機構、組織の構築機構に関する基礎研究、応用研究の重要性を改めて認識させてくれたとも言えます。iPS 細胞、また ES 細胞から何が作れるかを、これからは具体的に問われることになるでしょう。ES 細胞の臨床応用に慎重であった社会が、一転して、iPS 細胞・ES 細胞の臨床応用待望論に傾く可能性もあります。しかしながら、現時点では、安定して誘導可能な細胞、組織は極めて限られており、個々の組織細胞への分化誘導研究の重要性、必要性は言うまでもありません。再生医科学研究所は、「生体組織及び臓器の再生に関する学理及び応用の研究」を標榜し、細胞分化の基礎生物学から組織構築の医工学的操作まで幅広い研究を特徴としています。ES、iPS 細胞のみならず体性幹細胞の活発な研究も進んでいます。言わずもがなのことですが、この多様性を維持していくことが、iPS 細胞・ES 細胞の臨床応用の成否を左右することに大方の理解をいただき、支援をお願いしたいものです。

平成 19 年度、再生医科学研究所には組織面の変化もありました。世界トップレベル国際研究拠点形成促進プログラム、いわゆる「トップファイブ」のひとつに京都大学の「物質-細胞統合システム拠点」が採択され、中辻、楠見、山中教授が参加されることになりました。3 教授が再生医科学研究所の外にも研究活動の場を持たれることは喜ばしいことです。「iPS 細胞研究センター」と同じく、「拠点」と再生医科学研究所の間でも、研究者の交流を図るなど、研究、運営の面で緊密な連携に務めたいと思います。

平成 20 年度は再生医科学研究所の設立 10 周年に当たります。これを機に再生医科学研究所の新たな飛躍を祈念します。

平成 20 年 1 月

所 長 坂 口 志 文

2. 京都大学再生医科学研究所概要

2-1 沿革

本研究所は、平成10年4月9日に設置された。その前身である胸部疾患研究所は、昭和16年3月に「結核の予防及び治療」を主軸とする結核研究所として設置され、昭和42年6月には結核胸部疾患研究所に名称変更、さらに昭和63年4月には「胸部疾患に関する学理及びその応用の研究」を目的とした胸部疾患研究所への全面改組が行われたが、胸部疾患に関する研究・治療を取り巻く社会的要請の変化から、胸部疾患研究所は57年間にわたる使命を終え、平成10年度より、同研究所基礎系分野及び臨床系分野の一部を人工臓器の研究・開発に関して顕著な業績を挙げて来た生体医療工学研究センターと統合し、さらに実地臨床医学を行う医学研究科との協力により、「生体組織及び臓器の再生に関する学理及びその応用の研究」を目的とする再生医科学研究所に改組・転換された。

改組・転換に伴い、胸部疾患研究所の臨床系分野の一部と研究所附属病院は、大学院医学研究科・医学部並びに医学部附属病院へそれぞれ引き継がれた。

本研究所は、平成10年4月の発足時は5大研究部門と附属再生実験動物施設で組織された。その後平成14年4月に附属幹細胞医学研究センターが設置され、平成16年4月に研究部門の再編(1大研究部門減)の実施によりナノ再生医工学研究センターが設置された。平成16年10月には、住友電気工業(株)の寄附による寄附研究部門が設置され、よって、現在4大研究部門(生体機能学、生体組織工学、再生統御学、再生医学応用)、3附属施設、1寄附研究部門となっている。平成17年10月には、工学研究科、医学研究科とともに、ナノメディシン融合教育ユニットに参加した。

本研究所は生命科学、医学、工学などの研究者が結集して再生医学の学際的基礎研究を押し進め、その成果の医学応用をめざすとともに、ヒトES細胞株の国内唯一の樹立機関として、樹立・特性解析を行ったES細胞を、文部科学大臣が確認したヒトES細胞使用研究機関へ分配するナショナルバイオリソース事業を実施している。

主な建物は、再生医科学研究所西館(旧胸部疾患研究所附属病院の後身である医学部附属病院南西病棟と合同使用)、再生医科学研究所東館(旧生体医療工学研究センター)、ES細胞研究棟(平成14年竣工)、南部総合研究実験棟(ウイルス研、医学研究科との3部局合同使用)(平成14年竣工)の4棟となっている。

2-2 教員数等

(1) 教員 (平成20年1月1日現在)

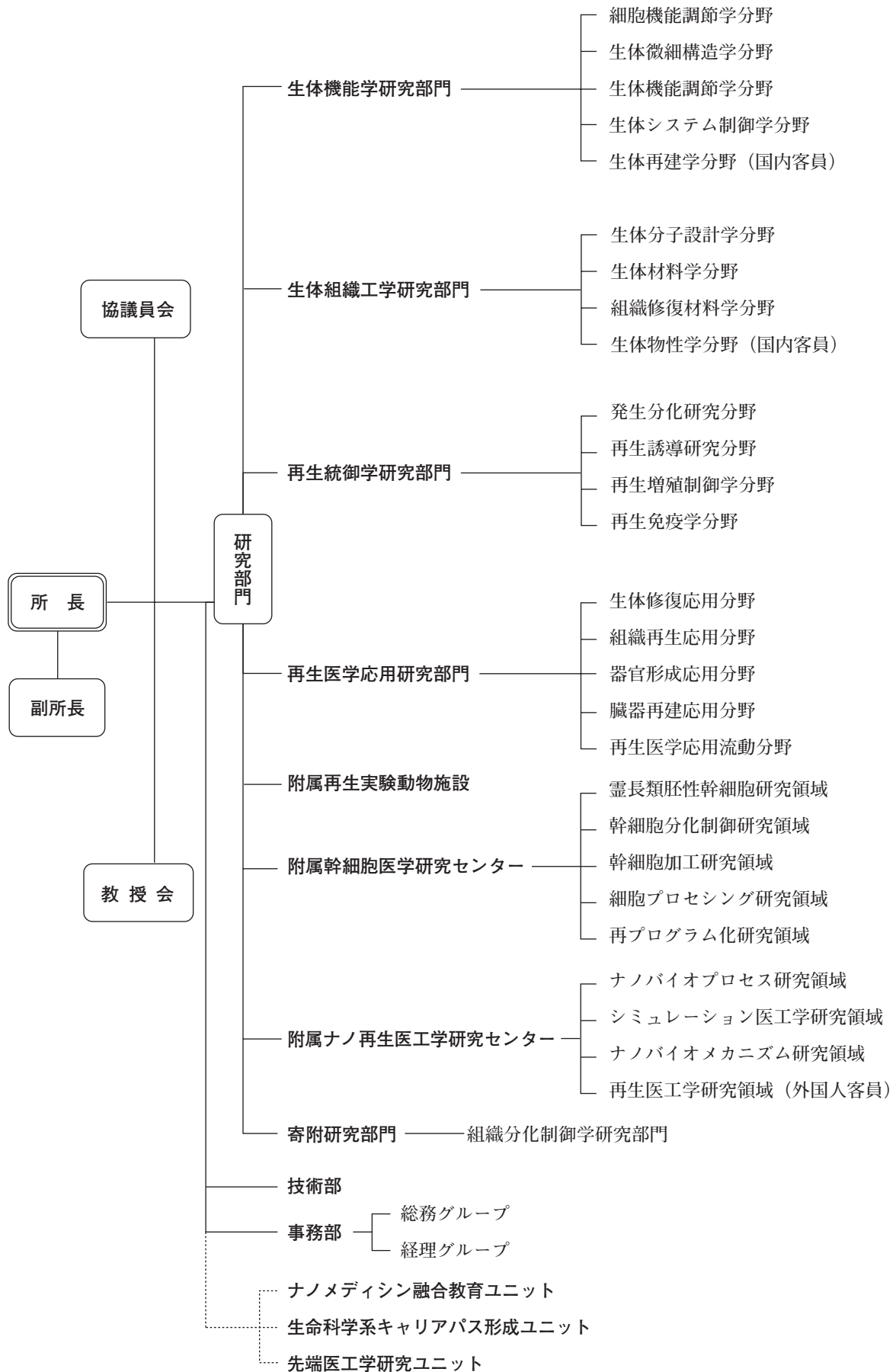
現 員	教 授	准教授	講 師	助 教	小 計	特 任 准教授	特任講師	特任助教	合 計
	12(3)	12(2)	1	11	36(5)	1	2	10	49(5)

() 内は客員で外数

(2) 大学院生・研修員・研究生等 (平成20年1月1日現在)

大 学 院 生	研 修 員	研 究 生	外国人共同研究者等
127	9	12	5

2-3 組織図



3. 研究概要と研究業績

生体機能学研究部門

細胞機能調節学分野

Department of Molecular and Cellular Biology

分野主任 教授 永田 和宏

Prof. Kazuhiro Nagata

【研究概要】

細胞機能調節学分野では、分子シャペロンの機能解析を中心に、再生現象の分子基盤とも言うべきタンパク質の合成・再生・品質管理の機構について、以下の4つの大きなテーマに添って研究を進めている。

第1のテーマは、小胞体における productive folding に関する研究であり、コラーゲン特異的分子シャペロン HSP47 の機能解析を中心に研究を進めている。HSP47 はコラーゲンの正常な合成・分泌にとって必須の分子シャペロンであることを明らかにしてきたが、HSP47 は組織の繊維化にとっても重要な寄与をし、HSP47 の発現を抑制することによって繊維化の進行を遅らせることができる。HSP47 ノックアウトマウス、および HSP47 ノックアウト ES 細胞や繊維芽細胞を用いた研究より、HSP47 が I 型及び IV 型コラーゲンの分子成熟(3 本鎖形成)に必須の分子シャペロンであることを明らかにし、基底膜やコラーゲン繊維の形成に必須であることを明らかにした。本年は、HSP47 ノックアウト細胞においては未熟なコラーゲンが小胞体に凝集体として蓄積するが、これらのコラーゲンはオートファジーによって分解を受けることを明らかにした。従来コラーゲンの遺伝病として知られる骨形成不全症における変異コラーゲンは小胞体関連分解によって分解されると考えられていたが、凝集をつくるような変異コラーゲンはオートファジー分解を受けることを示したもので、コラーゲン関連疾患の治療戦略を考える上でも重要な発見である。(文責・永田)

第2のテーマとして、小胞体品質管理(ERQC)、小胞体関連分解(ERAD)の作用機序の解明を、細胞および分子レベルで行っている。ERQC, ERAD に関しては、遺伝子レベルで mutation をもったタンパク質が ERAD 機構によって分解されたり、あるいは ERQC の破綻が疾患を引き起こすことが明らかにされ、臨床・疾病治療の面からも注目されている。ERAD に関わる EDEM ホモログタンパク質は、酵母では1種類、哺乳類では3種類あることが明らかにされた。いずれも糖タンパク質の ERAD を促進するが、その分子メカニズムは異なっているようなので、その違いを明らかにするとともに、EDEM ファミリーを包括する機能の解明を行いたいと考えている。さらに、ERQC における N 結合型糖鎖の役割、タンパク質の小胞体からの逆行輸送に関与する分子、小胞体膜上でタンパク質をユビキチン化する分子の研究も行っており、いずれも独自の視点に立った研究を進めている。最近、小胞体レクチンタンパク質が小胞体膜に存在するユビキチンリガーゼと複合体を形成し、ミスフォールドタンパク質品質管理の足場を提供していることを明らかにし、現在、糖鎖認識能の生化学的解析を行っている。(文責・細川)

第3のテーマとして、シャペロニンファミリータンパク質の機能およびミスフォールドタンパク質の凝集に関して研究を行った。細胞質シャペロニン CCT に関し、これと強調して、基質タンパク質の可溶化やフォールディングの促進に働くタンパク質を含むタンパク質画分を同定した。CCT と弱い相同性を示す McKusick-Kaufman syndrome (MKKS) タンパク質に関し、野生型では中心体とサイトゾルの間を行き来するが、疾患変異体の多くは構造異常により分解されたり、凝集することにより機能を失っていることを見出した。この分解には CHIP という品質管理ユビキチンリガーゼが重要な働きをしている。また、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の原因タンパク質の一つである SOD1 の凝集に関して研究を行い、神経以外の細胞内に SOD1 の凝集体を脱凝集する能力があることを見出した。(文責・久保田)

昨年度よりスタートした第4のテーマである小胞体内のレドックス関連因子 ERdj5 に関して以下のことを明らかにした。ERdj5 を過剰発現させるとチオレオドキシシン様ドメインの活性部位である CXXC モチーフ依存的にミスフォールドタンパク質のジスルフィド結合を還元し、ミスフォールドタンパク質がジスルフィド結合依存的なオリゴマーを形成するのを抑制することで ERAD を促進した。ERdj5 はシステインを持たないミスフォールドタンパク質の ERAD は促進も阻害もしない。一方、siRNA で ERdj5 を knockdown するとミスフォールドタンパク質のオリゴマーがより蓄積し、分解も遅延した。また、ERdj5 は EDEM と同様にマンノーストリミング依存的に ERAD を促進することがわかった。さらに ERdj5 は DnaJ ドメインを介して分子シャペロン BiP と結合し、この BiP との結合も ERdj5 による ERAD 促進に必要であった。これらの結果から EDEM, ERdj5, BiP が ERAD 複合体を形成することでミスフォールドタンパク質の認識からジスルフィド結合の切断、ミスフォールドタンパク質の巻き戻し、ディスロコンチャネルへの受け渡しまでを効率よく行うことで ERAD を促進しているものと考えられる。

(文責・寶閑)

The major focus in the Department of Molecular and Cellular Biology is to study the stress response and the regulation and function of molecular chaperone/stress proteins. We are working mainly on the four topics in this field.

We found and cloned the gene of a novel stress protein HSP47 which resides in the endoplasmic reticulum (ER) acting as a collagen-specific molecular chaperone in the pathway of collagen biosynthesis, processing and secretion. HSP47 specifically and transiently binds to various types of collagen in the ER. In addition to the binding specificity to collagen, the expression of HSP47 is always closely correlated with those of collagens during the normal development of mouse embryo as well as in the pathophysiological conditions including liver and renal fibrosis.

We already succeeded in making knockout mice lacking *hsp47* gene, which resulted in causing the embryonic lethality at 10.5 dpc in *hsp47*^{-/-} homozygotic mice. In these homozygotic mice, the maturation of type I collagen was abnormal and the immature form of procollagen accumulated in the tissues. Using *hsp47*^{-/-} ES cells, we found this year that type IV collagen secreted from *hsp47*-null cells could not form correct triple helices and the basement membrane was not formed in the embryoid bodies from those cells. We also observed the impairment of basement membrane formation in mouse embryos, thus these findings reveal that the knockout of a chaperone protein HSP47 causes the abnormality in molecular maturation of its substrate, and HSP47 is essential for mouse normal development. In those knockout mice, type IV collagen was observed to accumulate in the ER causing an ER stress, and apoptosis was also observed in those embryos after 10.5 dpc.

(By K. Nagata)

Another project we are working on is the molecular mechanism of ERQC (ER quality control) and ERAD (ER-as-

sociated degradation). Many works have clarified the importance of ERAD of misfolded proteins and the disruption of ERQC in genetic diseases and neurodegenerative disorders. We have previously cloned a mouse gene EDEM, which is involved in the ERAD of glycoproteins. There are three EDEM homolog proteins in mammals and one paralog in yeast. Although all of the homologs enhance glycoprotein ERAD, the molecular mechanisms of each proteins seem to be different. We are now investigating the functional divergence as well as the comprehensive mechanism of these EDEM family proteins. We are also working on the involvement of N-linked sugars on the ERQC, the molecular mechanism of retrotranslocation of misfolded substrates, and the molecules responsible for the ubiquitination of ERAD substrates on the ER membrane. Recently, we have found that two ER lectins make a complex with a membrane-embedded ubiquitin ligase, forming an ER quality-control scaffold. Biochemical analysis of these ER lectins are under investigation. (By N. Hosokawa)

Cytosolic molecular chaperones plays essential role in folding of proteins and preventing aggregation. We have detected protein fractions containing co-factors of cytosolic chaperonin CCT. In the presence of these factors, CCT-associated chaperone functions were stimulated. We found that McKusick-Kaufman syndrome (MKKS) protein, a chaperonin-like cytosolic protein, shuttles between the centrosome and cytosol. In contrast, disease-causing MKKS mutants are rapidly degraded and/or form insoluble structures. Chaperone-dependent ubiquitin ligase plays an important role in the degradation of MKKS mutants. In addition, we found that aggregates of a SOD1 mutant that causes amyotrophic lateral sclerosis (ALS) can be disaggregated in non-neuronal cells. (By H. Kubota)

We have found that ERdj5 catalyses reduction of intermolecular disulfide bonds of misfolded proteins via CXXC motifs in its thioredoxin-like domains and promotes their ERAD. Knockdown of ERdj5 using siRNA delays ERAD of misfolded proteins. ERAD of cysteine-less misfolded proteins are affected by neither overexpression nor knockdown of ERdj5. ERdj5 accelerates ERAD in a mannose-trimming dependent manner as well as EDEM does. ERdj5 also interacts with an ER molecular chaperone BiP via its DnaJ domain. The interaction is necessary for the ERAD acceleration of ERdj5. These findings suggest EDEM-ERdj5-BiP complex accelerates ERAD efficiently: EDEM recognizes misfolded proteins; ERdj5 catalyzed reduction of their disulfide bonds; BiP unfolds them into extended polypeptides and holds degradation-competent form until they are transfered to dislocon. (By J. Hoseki)

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Morito, D., Hirao, K., Tokunaga, F., Hosokawa, N., Cyr, D.M., Tanaka, K., Iwai, K. & Nagata, K. : Gp78 cooperates with RMA1 in ER-associated degradation of CFTRΔF508. *Mol. Biol. Cell.* in press

Hirayama, S., Yamazaki, Y., Kitamura, A., Oda, Y., Morito, D., Okawa, K., Kimura, H., Cyr, D.M., Kubota, H. & Nagata, K. : MKKS is a centrosome-shuttling protein degraded by disease-causing mutations *via* CHIP-mediated ubiquitination. *Mol. Biol. Cell.* In press

Nakamura, J., Fujimoto, M., Yasuda, K., Takeda, K., Akira S., Hatayama, T., Takagi, Y., Nozaki, K., Hosokawa, N., & Nagata, K. : Targeted Disruption of Hsp110/105 Gene Protects against Ischemic Stress *Stroke* in press

Nakayama, S., Mukae, H., Sakamoto, N., Kakugawa, T., Yoshioka, S., Soda, H., Oku, H., Urata, Y., Kondo, T., Kubota,

- H., Nagata, K. & Kohno, S. : Pirfenidone inhibits the expression of HSP47 in TGF- β 1-stimulated human lung fibroblasts. *Life Sci.* in press
- Hosokawa, N., You, Z., Tremblay, L.O., Nagata, K. & Herscovics, A. : Stimulation of ERAD of misfolded null Hong Kong α 1-antitrypsin by Golgi α 1,2-mannosidases. *Biochem Biophys Res Commun.* **362** : 626-632 (2007)
- Nagasawa, K., Higashi, T., Hosokawa, N., Kaufman, R. J. & Nagata, K. : Simultaneous induction of the four subunits of TRAP complex by ER stress accelerates ER degradation. *EMBO reports* **8**, 483-490 (2007)
- Mizobuchi, N., Hoseki, J., Kubota, H., Toyokuni, S., Nozaki, J., Naitoh, M., Koizumi, A. & Nagata, K. : ARMET is a soluble ER protein induced the unfolded protein response via ERSE-II Element. *Cell Struct. and Funct.* **32** : 41-50 (2007)
- Yoshioka, S., Mukae, H., Ishii, H., Kakugawa, T., Ishimoto, H., Sakamoto, N., Hujii, T., Urata, Y., Kondo, T., Kubota, H., Nagata, K. & Kohno, S. : Alpha-defensin enhances expression of HSP47 and collagen-1 in human lung fibroblasts. *Life Sci.* **80** : 1839-1845 (2007)
- Kosaka, H., Hoseki, J., Nakagawa, N., Kuramitsu, S. & Masui, R. : Crystal Structure of Family 5 Uracil-DNA Glycosylase Bound to DNA. *J. Mol. Biol.* **373** : 839-850 (2007)

2) 著書および総説

- 永田和宏：タンパク質の品質管理機構．バイオ研究マスターシリーズ「タンパク質の一生集中マスター 細胞における成熟・輸送・品質管理」羊土社 pp86-94 (2007)
- 久保田広志，北村 朗，永田和宏：細胞質シャペロニン CCT が異常タンパク質凝集の初期過程を抑制して細胞毒性を防止する．細胞工学 Vol.26, No.2 : 188-189 (2007)
- 久保田広志、永田和宏：シャペロンと病態の接点．バイオ研究マスターシリーズ「タンパク質の一生集中マスター 細胞における成熟・輸送・品質管理」羊土社 pp133-134 (2007)
- 久保田広志、永田和宏：品質管理の切り札：核における品質管理．バイオ研究マスターシリーズ「タンパク質の一生集中マスター 細胞における成熟・輸送・品質管理」羊土社 pp134 (2007)
- 久保田広志、永田和宏：アミロイド病とトランスサイレチン変異体．バイオ研究マスターシリーズ「タンパク質の一生集中マスター 細胞における成熟・輸送・品質管理」羊土社 pp134 (2007)
- 寶関 淳、永田和宏：小胞体関連分野(ERAD)を担うジスルフィド還元酵素 ERdj5. 実験医学「細胞内の輪廻転生タンパク質の分解機構」 in press

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

- Nobuko Hosokawa, Ikuo Wada, Koji Nagasawa, Tetsuya Moriyama, Katsuya Okawa, Kazuhiro Nagata : Human XTP3-B forms an ER quality-control Scaffold with the HRD1-SEL1L ubiquitin ligase complex and BiP. 特定領域研究「タンパク質の一生」ポストシンポジウム，熱海市，2007.11.22-23
- 久保田広志：McKusick-Kaufman syndrome タンパク質の病因変異体の凝集と分解．第2回臨床ストレス応答学会大会，福岡市，2007.11.30
- 久保田広志，里本健輔，山谷 理，永田和宏：細胞質シャペロニン CCT 共役因子の探索 第30回日本分子生物学

- 会年会. 第 80 回日本生化学会大会合同大会, 横浜市, 2007.12.11-15
- 寶関 淳: 小胞体関連分解における新しい因子〜ジスルフィド結合の切断を担う還元酵素 ERdj5. 再生研若手発表会, 京都市, 2007.3.29
- 寶関 淳, 潮田 亮, 新木和孝, Jansen Gregor, Thomas David, 永田和宏: 小胞体関連分解における新しい因子〜ジスルフィド還元酵素 ERdj5. 第 7 回日本蛋白質科学会年会ワークショップ, 仙台市, 2007.5.24-26
- 寶関 淳, 新木和孝, 潮田 亮, Gregor Jansen, David Y Thomas, 永田和宏: 小胞体関連分解における新しい因子? ジスルフィド還元酵素 ERdj5 への生化学的解析. 第 30 回日本分子生物学会年会, 第 80 回日本生化学会大会合同大会, 横浜市, 2007.12.11-15
- 長澤孝治: 小胞体関連分解機構における小胞体膜タンパク質複合体 TRAP の機能解析. 再生研若手発表会, 京都市, 2007.3.29
- Akira Kitamura, Hiroshi Kubota, Masataka Kinjo, Richard I. Morimoto, Kazuhiro Nagata: Cytosolic chaperonin CCT prevents neuronal cell death with altering polyglutamine oligomeric aggregate formation., Kyoto University IFMS International Symposium 2007, Kyoto, 2007.9.19-20
- Akira Kitamura, Hiroshi Kubota, Noriko Inada, Gen Matsumoto, Masataka Kinjo, Richard I. Morimoto, Kazuhiro Nagata: Fluorescence correlation spectroscopy analysis of the aggregation and disaggregation of amyotrophic lateral sclerosis-linked SOD1. FCS Workshop 2007, Sapporo, 2007.11.26-28
- 北村 朗, 久保田広志, 松本 弦, 稲田のりこ, 金城政孝, Richard Morimoto, 永田和宏: 変異型 SOD1 タンパク質凝集体形成と脱凝集メカニズムの時空間的解析. 第 30 回日本分子生物学会年会, 第 80 回日本生化学会大会合同大会一般口頭発表, 横浜市, 2007.12.14
- 北村 朗, 久保田広志, 松本 弦, 稲田のりこ, 金城政孝, Richard Morimoto, 永田和宏: 変異型 SOD1 タンパク質凝集体形成と脱凝集メカニズムの時空間的解析. 第 30 回日本分子生物学会年会, 第 80 回日本生化学会大会合同大会, 横浜市, 2007.12.11-15
- 石田義人, 久保田広志, 北村朗, 永田和宏: Hsp47 ノックアウト細胞における, コラーゲンの凝集体形成とアポトーシス誘導. 第 39 回日本結合組織学会学術会議・第 54 回マトリックス研究会大会合同学術集会, 東京都, 2007.5.9-11
- Yoshihito Ishida, Kubota Hiroshi, Kitamura Akira, Kazuhiro Nagata: Aggregation of type I collagen and induction of apoptosis in Hsp47-null cells. 第 40 回日本発生生物学会・第 59 回日本細胞生物学会合同大会, 福岡市, 2007.5.28-30
- Yoshihito Ishida, Hiroshi Kubota, Akira Kitamura, Akitsugu Yamamoto, Tamotsu Yoshimori, Kazuhiro Nagata: Unfolded collagen accumulated in endoplasmic reticulum is degraded by lysosomes via the activation of autophagy. 国際シンポジウム「メンブレントラフィック」, 淡路島, 2007.11.27-29
- 石田義人: 小胞体に蓄積する異常なコラーゲンは, オートファジーによって分解される第 2 回臨床ストレス応答学会大会. 福岡市, 2007.11.30
- Ryo Ushioda, Jun Hoseki, Kazutaka Araki, Gregor Jansen, David Y. Thomas, Kazuhiro Nagata: A novel thiol reductase, ERdj5, is required for ER-associated degradation of misfolded proteins. 第 40 回日本発生生物学会・第 59 回日本細胞生物学会合同大会, 福岡市, 2007.5.28-30
- Ryo Ushioda, Jun Hoseki, Kazutaka Araki, Gregor Jansen, David Y. Thomas, Kazuhiro Nagata: A novel thiol reductase, ERdj5, is required for ER-associated degradation of misfolded Proteins Gordon Research Conference,

Stress Proteins in Growth, Development & Disease, Oxford (UK), 2007.8.19-24

Ryo Ushioda, Jun Hoseki, Kazutaka Araki, Gregor Jansen, David Y. Thomas, Kazuhiro Nagata : A novel thiol reductase, ERdj5, is required for ER-associated degradation of misfolded proteins. Kyoto University IFMS International Symposium 2007, Kyoto, 2007.9.19-20

潮田 亮, 寶関 淳, 新木和孝, Gregor Jansen, David Y Thomas, 永田和宏: 小胞体関連分解におけるジスルフィド結合切断の重要性. 第30回日本分子生物学会年会, 第80回日本生化学会大会合同大会ワークショップ, 横浜市, 2007.12.12

潮田 亮, 寶関 淳, 新木和孝, Gregor Jansen, David Y Thomas, 永田和宏: 小胞体関連分解におけるジスルフィド結合切断の重要性. 第30回日本分子生物学会年会, 第80回日本生化学会大会合同大会, 横浜市, 2007.12.11-15

Shoshiro Hirayama, Yuji Yamazaki, Akira Kitamura, Yukako Oda, Daisuke Morito, Katsuya Okawa, Hiroshi Kimura, Douglas M. Cyr, Hiroshi Kubota & Kazuhiro Nagata : マックジック-カウフマン病タンパク質は細胞質と中心体を素早く行き来し, その疾患原因変異体タンパク質は品質管理 E3 リガーゼ CHIP により素早く分解される. 第40回日本発生生物学会・第59回日本細胞生物学会合同大会, 福岡市, 2007.5.28-30

Kazutaka Araki, Ryo Ushioda, Jun Hoseki, Gregor Jansen, David Y. Thomas & Kazuhiro Nagata : Identification of ER-resident thiol reductase that is required for ER-degradation of misfolded proteins. EMBO-FEBS Workshop "Chaperones in Normal & Aberrant Protein Folding, Aging & Cancer", Tomar (Portugal), 2007.6.9-13

Yoshihiro Ishikawa, Janice A. Vranka, Jackie Wirz, Nena Winand, Kazuhiro Nagata, Hans Peter Bachinger : Functional analysis of the P3H1/CRTAP/CypB complex during the biosynthesis of interstitial collagens. 7th Pan Pacific Connective Tissue Societies Symposium, Cairns (Australia), 2007.10.28-11.1

2) 招待講演・シンポジウム

Kazuhiro Nagata : ERdj5 as a reductase in the ER accelerating the ER degradation of misfolded proteins. International Symposium "Milestones in the Life of Proteins", Kyoto (Japan), 2007.3.15

Kazuhiro Nagata : Cleavage of disulfide bonds of misfolded proteins by ER reductase accelerates the ER degradation. EMBO-FEBS Workshop "Chaperones in Normal & Aberrant Protein Folding, Aging & Cancer", Tomar (Portugal), 2007.6.11

Kazuhiro Nagata : a novel thiol reductase accelerates the ER degradation of misfolded proteins in collaboration with EDEM and BiP. Seminar at San Raffaele Scientific Institute, Milano (Italy), 2007.6.15

Kazuhiro Nagata : Quality control of nascent proteins in the ER. Seminar at University of Zürich, Zürich (Switzerland), 2007.6.21

Kazuhiro Nagata : A novel thiol reductase ERdj5 accelerates ER-associated degradation by cleaving the intermolecular disulfide bonds of misfolded proteins. FASEB Summer Research Conference, Proteins Folding in the Cell, Palm Springs (USA), 2007.7.30

永田和宏: 小胞体における蛋白質の品質管理機構. 秋田大学工学部資源工学科分子生物化学特別講演, 秋田市, 2007.8.6

Kazuhiro Nagata : Thiol reductase ERdj5 accelerates the ER-associated degradation by cleaving intermolecular disulfide bonds of misfolded proteins. Gordon Research Conference, Stress Proteins in Growth, Development & De-

sease, Oxford (UK), 2007.8.21

Kazuhiro Nagata : Quality control mechanism of the degradation of misfolded proteins in the ER. IFMS, IMEG, KUSM, CDB Joint Forum, Kobe (Japan), 2007.9.5

Kazuhiro Nagata : Collagen-specific molecular chaperone HSP47. 7th Pan Pacific Connective Tissue Societies Symposium, Cairns (Australia), 2007.10.30

永田和宏：小胞体におけるタンパク質フォールディングと品質管理，名古屋大学大学院理学研究科生命科学専攻セミナー，名古屋市，2007.11.8

永田和宏：小胞体におけるタンパク質の品質管理機構，特定領域研究「タンパク質の一生」ポストシンポジウム，熱海市，2007.11.22

永田和宏：小胞体におけるタンパク質品質管理機構，京都大学再生医科学研究所平成19年度学術講演会，京都市，2007.12.26

Hiroshi Kubota, Akira Kitamura, Shoshiro Hirayama and Kazuhiro Nagata : Role of cytosolic chaperonin CCT in preventing the cytotoxicity of aggregation prone proteins. 第40回日本発生生物学会・第59回日本細胞生物学会合同大会シンポジウム，福岡市，2007.5.28

北村 朗：生細胞内蛍光イメージング手法を用いたタンパク質凝集とシャペロン機能の時空間的機能解，第7回日本蛋白質科学会年会シンポジウム，仙台市，2007.5.24-26

Hans Peter Bachinger, Janice A. Vranka, Elena Pokidysheva, Kazuniro Mizuno, Yoshihiro Ishikawa, Jackie Wirz, Nena Winand & Kazuhiro Nagata : 3(S)-Hydroxyprolines in collagens and the consequences of their absence. 7th Pan Pacific Connective Tissue Societies Symposium, Cairns (Australia), 2007.10.30



生体微細構造学分野 Department of Ultrastructural Research

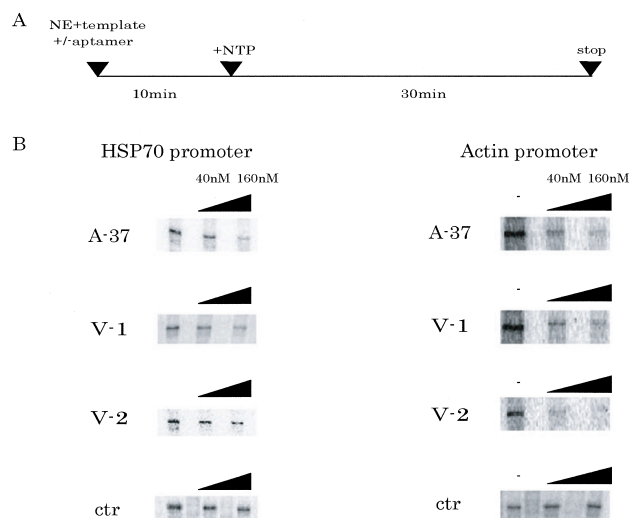
講師 平芳 一法

Lect. Kazunori Hirayoshi

【研究概要】

設計図の図書館 DNA から，生命現象に必要な設計図 mRNA を書き出す操作に当たる転写は，長年生命科学の研究の対象であったが，未だに不明な点が多い．遺伝子特異的な転写調節のしくみ，転写開始から，伸長過程への移行機構，クロマチン構造変化因子と転写活性化の問題を解明するため，新しい方法論を取り込みながら研究を展開している．遺伝子特異的な制御は概ね遺伝子特異的な転写因子によって制御されていると考えられるが，厳密な制御方法の全体像は明らかにされていない．転写には全ての遺伝子に共通と考えられている基本転写機構が存在しているが，この過程の遺伝子特異性の存在については不明である．ストレス蛋白質の発現調節機構をモデルに解析を進める過程で，基本転写機構にも遺伝子特異性に関与している可能性をみいだした．転写装置のハブとして働く TBP は，DNA 上に存在する TATA 配列を認識し，転写複合体を構築するための足場を提供することで，全ての転

Promoter depending inhibition of transcription by aptamers



aptamer の遺伝子特異的にみられる阻害効果

転写において aptamer が示す遺伝子による影響の違いを、*in vitro* 転写によって示した。actin 遺伝子では v-2 アプタマーが顕著な効果を示した。これは、転写複合体の構成物の違いを示唆するものと思われる。

Gene specific inhibitory effect of aptamer.

Aptamer showed gene depending inhibitory effect on the *in vitro* transcription. V-2 aptamer showed most remarkable inhibitory effect on actin promoter. This result suggests the difference of component in the transcription complex.

写に共通な基本転写に必須の因子として機能している。TBP は生体内では単独で機能するのではなく、複合体を形成した上でその機能を発揮すると考えられている。多くの基本転写因子も含めたこの複合体が、転写の実質的な司令塔となる。中心となる TBP に部位特異的な結合をし、他因子との結合を阻害する機能性 RNA 因子である RNA aptamer を選別・取得した。種々の遺伝子を鋳型とした転写反応にこの aptamer を加えたところ、遺伝子によってその影響が異なり、TBP を核とする転写複合体にも遺伝子特異性を規定する機能が備わっていることを明らかにした。

発見当初、転写活性化因子として同定された GAF は、転写調節領域に存在する GAGA 配列に結合する。その後の研究から、クロマチンリモデリング因子と関連してクロマチンの巻きほぐしに関与することが明らかにされてきた。発生やストレス応答などに関与する遺伝子の多くは、GAF 依存的遺伝子として知られ、GAF が結合することで、転写可能な状態になる。しかし、我々の実験では、クロマチン構造をとらない DNA に対しても転写活性を示したことから、クロマチン構造とは関連しない、他の活性化機構の存在が示唆された。この機構を明らかにするため、TBP と同様、GAF 特異的な RNA aptamer を獲得し、*in vitro* 転写系を用いて解析を行った。GAF の機能を阻害すると転写伸張反応が阻害され、この段階に関与しているものと考えられる。また、この阻害は GAF 依存的な遺伝子特異的であり、GAF 依存性は転写調節領域の GAGA 配列以外にも何らかの機構により調節されている可能性があることを示した。

一連の実験に解析ツールとして使用した RNA aptamer は、近年注目されている抗体医薬に代わるものとして期待される。抗体と同様に特定分子に結合するが、その結合力はむしろ強く、生産性、細胞内での扱いに優れているなどの特徴から、医薬品としての応用が期待される。分子の修飾による特異性の増大など、応用に向けて種々の努力がなされているが、我々は、生体内で効率的に働く aptamer 分子の構築を試みている。多量体を作成することで、阻害剤としての効果が著しく増大することを明らかにした。生体内では一定時間で分解されるという特徴を生かし、

必要なときにのみ働く，副作用の少ない薬剤となるよう，上述の方法を含め，その分子の有効な構築を試みている。

The transcription, to make practical blueprint for realizing the information of DNA as a gene, is critical for every step of the life. We focus two molecules, TBP (TATA Binding Protein) and GAF (GAGA binding factor), as a key molecule, to resolve the mechanisms of gene specific regulation, and gene activation through the chromatin structure. TBP, the “hub” molecule for the general transcription provides the scaffold to establish the transcription complex. TBP works as a key molecule to establish a pre-initiation complex, which consists of TBP, general transcription factors and related molecules. To analyze this complex, we selected RNA aptamers that inhibit the binding between TBP and its binding factors. When we put these aptamers into *in vitro* transcription, different inhibitory effect of aptamers was shown dependent on the gene that means the existence of gene specific regulation mechanism by general transcription factors. TBP cored scaffold complex for transcription was believed that stay on the site after the RNA polymerase II, the core enzyme for transcription, leaves from the pre-initiation with tight formation, but our result with TBP specific aptamer showed dynamic regulation.

The GAF (GAGA factor) of *Drosophila* is a sequence -specific DNA binding protein that is involved in a variety of different nuclear process. GAF is encoded by the trithorax-like (*Trl*) gene, which is required for the normal expression of the homeotic genes. Many genes including stress protein and development stage specific in *drosophila* is regulated by GAF. It was proposed that GAF can cooperate with chromatin remodeling factors to modify chromatin structure. GAF is also activating the transcription with naked DNA by our experiment that suggests the presence of different activation mechanism. Using a GAF specific aptamer, we showed the involvement of GAF in the transcriptional elongation step by gene specific manner.

RNA aptamer is expected as a substituent of antibody therapy. To expand the application of RNA aptamer as a cure drug or examination reagent, we tried to establish the construct protocol for more effective aptamers.

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会発表

法邑賢一・平芳一法：転写開始後における GAGA 因子の機能解析の解析．第 30 回日本分子生物学会物学会年会
(2007.12.11.～15. 横浜)

生体機能調節学分野 Department of Experimental Pathology

分野主任 教授 坂口 志文
Prof. Shimon Sakaguchi

【研究概要】

(1) 免疫寛容の基礎的研究

正常な免疫系は、非自己抗原に対して免疫応答を示すが、正常自己構成成分に対しては応答しない。このような免疫自己寛容の基礎的メカニズムとして、制御性 T 細胞による自己反応性 T 細胞の抑制的制御が重要である。その機能異常は自己免疫病の原因となる。転写因子 Foxp3 は、制御性 T 細胞の発生・分化のマスター制御分子である。本年度、Foxp3 による転写制御機構について解析を進めた。その結果、Foxp3 は、別の転写因子 AML1/Runx 1 と結合し、制御性 T 細胞における IL-2 産生抑制、および制御能の発揮に働くことを見出した。

(2) 自己免疫、腫瘍免疫、移植免疫の基礎的研究

内在性制御性 T 細胞の増殖あるいは機能強化を図り、自己免疫病の予防・治療、移植臓器の拒絶反応の抑制、免疫寛容の導入が可能である。前年度に引き続き、制御性 T 細胞に特異的に発現する機能分子を探索し、そのような細胞表面分子に対する単クローン抗体の作製を試みた。その結果、4 型葉酸受容体 (FR4) が制御性 T 細胞特異的に高発現することを見出した。FR4 に対する単クローン抗体を作製し解析を進めた結果、FR4 の発現強度によって、制御性 T 細胞と他の活性化 T 細胞を区別可能であるとの結果を得た。実際この抗体の生体内投与により、制御性 T 細胞の減少を図れば進行癌に対して有効な腫瘍免疫を惹起できた。また、FR4 陽性制御性 T 細胞を精製すれば移植片の拒絶を抑制することが可能であった。

(3) 新しい動物モデルを用いた慢性関節リウマチ (リウマチ様関節炎) の原因・発症機構の研究

免疫病理学的にヒトのリウマチ様関節炎と酷似する慢性関節炎を自然発症するマウスモデル (SKG マウス) を確立し、その原因・発症機構を解析している。この関節炎は、正常関節抗原を認識・攻撃する T 細胞による自己免疫性関節炎である。この関節炎発症にサイトカイン IL-17 が必須である。本年度、IL-17 を産生する Th17 細胞は、ケモカインレセプター CCR6 を発現し、そのリガンドである CCL20 によって、Th17 細胞は関節炎局所に動員されること、抗 CCR6 抗体投与によって動員を阻害すれば関節炎の発症抑制が可能であることを見出した。さらに、ヒトの関節リウマチにおいても、Th17 細胞は CCR6 を高発現すること、関節リウマチの関節液には、IL-17 と CCL20 の濃度に強い相関があることを見出した。

This department studies : (i) the cellular and molecular basis of immunologic self-tolerance and the etio-pathology of autoimmune disease ; (ii) the strategy for eliciting effective immune responses to autologous tumor cells, or inducing immunologic tolerance to organ transplants, by manipulating the mechanism of immunologic self-tolerance ; and (iii) the cause and pathogenetic mechanism of rheumatoid arthritis.

One aspect of immunologic self-tolerance (i.e., immunological unresponsiveness of the normal immune system to

normal self-constituents) is actively maintained through a T cell-mediated dominant control of self-reactive T cells by naturally occurring regulatory CD4⁺ T cells. We have shown that the transcription factor Foxp3 is a master regulator of their development and function.

This year, we have attempted to understand the molecular basis of the development and function of regulatory T cells. We have shown that Foxp3 binds to another transcription factor AML1/Runx1, thereby confer suppressive activity to regulatory T cells. We have also shown that Foxp3⁺ regulatory T cells express the folate receptor 4 (FR4) at a high level, enabling the distinction between activated regulatory T cells and effector T cells. Indeed, administration of anti-FR4 monoclonal antibody provoked effective tumor immunity through reducing the number of regulatory T cells in tumor-bearing mice while preserving effector T cells attacking tumor cells. Further, regulatory T cells enriched from alloantigen-reactive lymphocyte suspensions effectively suppressed graft rejection.

We are also investigating the cause and pathogenetic mechanism of rheumatoid arthritis (RA) by analyzing a mouse model (called SKG mice) established in our laboratory. SKG mice, which have a mutation of the gene encoding ZAP-70, a T cell-specific signaling molecule, spontaneously develop autoimmune arthritis chiefly mediated by IL-17-secreting CD4⁺ T cells, called Th17 cells. This year, we have shown that arthritogenic Th17 cells predominantly express the chemokine receptor CCR6 and are recruited to the arthritic joints via CCL20, a ligand for CCR6. Blocking CCR6 by a specific monoclonal antibody suppressed the progress of arthritis. We have also shown that human TH17 cells express CCR6 and there is a significant correlation between the concentrations of IL-17 and CCL20 in the joint fluid of RA patients.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Sakaguchi S. Regulatory T cells in the past and for the future. *Eur. J. Immunol.* In press.

Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M. Regulatory T cells for immune tolerance and homeostasis. *Cell.* In press.

Hirota K, Yoshitomi H, Hashimoto M, Maeda S, Teradaira S, Sugimoto N, Yamaguchi T, Nomura T, Ito H, Nakamura T, Sakaguchi N, Sakaguchi S. Preferential recruitment of arthritogenic Th17 cells to inflamed joints via CCR6/CCL20 in rheumatoid arthritis and its animal model. *J. Exp. Med.* 204 : 2803-2812, 2007.

Sakaguchi S, Powrie F. Emerging challenges in regulatory T cell function and biology. *Science.* 317 : 627-629, 2007.

Fehervari Z, Sakaguchi S, Wie sich das Immunsystem selbst kontrolliert. *Spektrum der Wissenschaft.* 08/07, 54-61, 2007.

Sakaguchi S, Wing K, Miyara M. Regulatory T cells in brief history and perspective. *Eur. J. Immunol.* 37 : s116-123, 2007

Ko, H. J., Kim, Y. J., Kim, Y. S., Chang, W. S., Ko, S. Y., Chang, S. Y., Sakaguchi, S., Kang, C. Y. A combination of chemoimmunotherapies can efficiently break self-tolerance and induce antitumor immunity in a tolerogenic murine tumor model. *Cancer Res.* 67 : 7477-7486, 2007.

Yamaguchi T, Hirota K, Nagahama K, Ohkawa K, Takahashi T, Nomura T, Sakaguchi S. Control of immune responses by antigen-specific regulatory T cells expressing the folate receptor. *Immunity.* 27 : 145-159, 2007.

Ono M, Yaguchi H, Ohkura N, Kitabayashi I, Nagamura Y, Nomura T, Miyachi Y, Tsukada T, Sakaguchi S. Foxp3 con-

- trols regulatory T cell function via interacting with AML1/Runx1. *Nature*. 446 : 685-689, 2007.
- Nomura T, Sakaguchi S. Foxp3 and Aire in thymus-generated T (reg) cells : a link in self-tolerance. *Nat Immunol*. 8 : 333-334, 2007.
- Miyara M, Sakaguchi S. Natural regulatory T cells : mechanisms of suppression. *Trends Mol Med*. 13 : 108-116, 2007.
- Hirota K, Hashimoto M, Yoshitomi H, Tanaka S, Nomura T, Yamaguchi T, Iwakura Y, Sakaguchi N, Sakaguchi S. T cell self-reactivity forms a cytokine milieu for spontaneous development of IL-17⁺ Th cells that cause autoimmune arthritis. *J Exp Med*. 204 : 41-47, 2007.
- Koshiba T, Li Y, Takemura M, Wu Y, Sakaguchi S, Minato N, Wood KJ, Haga H, Ueda M, Uemoto S. Clinical, immunological, and pathological aspects of operational tolerance after pediatric living-donor liver transplantation. *Transpl Immunol*. 17 : 94-97, 2007.
- Bodor J, Fehervari Z, Diamond B, Sakaguchi S. ICER/CREM-mediated transcriptional attenuation of IL-2 and its role in suppression by regulatory T cells. *Eur J Immunol*. 37 : 884-895, 2007.
- Bodor J, Fehervari Z, Diamond B, Sakaguchi S. Regulatory T cell-mediated suppression : potential role of ICER. *J Leukoc Biol*. 81 : 161-167, 2007.

2) 総 説

- 野村尚史, 坂口志文 : CD25⁺CD4⁺制御性 T 細胞の免疫制御. 炎症と免疫 Vol.15 No.4 2007.(423-431)
- 小野昌弘, 坂口志文 : Foxp3 は AML1/Runx1 と結合し制御性 T 細胞の機能を制御している. 細胞工学 Vol.26 No.7 2007.(790-791)
- 山口智之, 坂口志文 : CD25⁺CD4⁺制御性 T 細胞を標的とした腫瘍免疫の操作. 実験医学 Vol.25 No.18 2007.(2868-2874)
- 前田伸治, 坂口志文 : T 細胞情報伝達異常とリウマチ性疾患. リウマチ科 Vol.38 No.4 2007(391-396)
- 橋本 求, 廣田圭司, 坂口志文 : 自己反応性 T 細胞の IL-17 産生と環境要因. 臨床免疫・アレルギー科 Vol.48 No.4 2007.(375-378)
- 野村尚史, 坂口志文 : 制御性 T 細胞とその病理の分子免疫学 The Frontiers in Medical Sciences 免疫応答と免疫病態の統合的分子理解. 南山堂 2007.(161-169)
- 廣田圭司, 坂口志文 : Th17 と SKG 関節炎. Annual Review 免疫 2008(273-279)
- 清水 淳, 坂口志文 : GITRL/GITR の CD4⁺T 細胞機能への作用 TNF ファミリーの分子リウマチ学—基礎から臨床へ—. 分子リウマチ Vol.4 No.4 2007(46-51)
- 山口智之, 坂口志文 : 4 型葉酸レセプターを介した制御性 T 細胞の操作. 分子消化器病 Vol.4 No.4 2007.(110-113)
- 小野昌弘, 坂口志文 : 免疫調節に関与する細胞の胸腺内生成過程. Medical Bio January(50-54)

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

- Masahiro Ono, Hiroko Yaguchi, Naganari Ohkura, Issay Kitabayashi, Takashi Nomura, Toshihiko Tsukada, Shimon Sakaguchi : A mechanism of IL-2 repression by Foxp3 and a Foxp3-interacting protein. JSI-RCAI Workshop 2007(2007.3.7. 横浜)

山口智之：CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺制御性 T 細胞の誘導. 第 9 回 COE 若手研究者発表会(2007.3.16. 京都)

小野昌弘, 矢口浩子, 大倉永也, 北林一生, 塚田俊彦, 宮地良樹, 坂口志文：転写因子 Foxp3 とその結合因子による制御性 T 細胞の機能制御メカニズムの解明. 日本研究皮膚科学会第 32 回年次学術大会・総会(2007.4.18-20. 横浜)

小野昌弘, 坂口志文：Foxp3 は AML1/Runx1 と結合して制御性 T 細胞の機能を制御する. 第 17 回 Kyoto T Cell Conference(2007.6.15-16. 京都)

山口智之：TGF- β , IL-2, TCR 刺激強度依存症にすべて naive CD4⁺T 細胞から Foxp3⁺制御性 T 細胞が誘導される 第 17 回 Kyoto T Cell Conference(2007.6.15-16. 京都)

山口智之, 坂口志文：Foxp3⁺regulatory T cells can be induced from any naive CD4⁺ T cells depending on the dose of TGF- β and IL-2 and the intensity of TCR stimulation. Kyoto University 21st Century COE Symposium Integration of Transplantation Therapy and Regenerative Medicine(2007.6.29-30. 京都)

Kajsa Wing, Takashi Nomura, Shimon Sakaguchi：The regulatory T cell-specific role of CTLA-4. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会(2007.11.20-22. 品川)

山口智之, 坂口志文：ナイーブ CD4⁺T 細胞から Foxp3⁺制御性 T 細胞が誘導される条件について. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会(2007.11.20-22. 品川)

島 友子, 野村尚史, 齊藤 滋, 坂口志文：アロ抗原により誘導される制御性 T 細胞の動態解析. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会(2007.11.20-22. 品川)

前田伸治, 田中 聡, 廣田圭司, 寺平 晋, 橋本 求, 野村尚史, 上田龍三, 坂口教子, 坂口志文：TCR シグナル伝達の補正による SKG マウス自己免疫性関節炎の発症抑制. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会(2007.11.20-22. 品川)

寺平 晋, 廣田圭司, 橋本 求, 前田伸治, 山口智之, 野村尚史, 坂口教子, 坂口志文：SKG マウスにおける自己反応性 CD4⁺T 細胞集団の解析. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会(2007.11.20-22. 品川)

鬼頭昭彦, 小野昌弘, 矢口浩子, 大倉永也, 北林一生, 塚田俊彦, 野村尚史, 宮地良樹, 谷内一郎, 坂口志文：Foxp3⁺CD4⁺制御性 T 細胞の分化における AML1/Runx1 および CBF β の役割の解析. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会(2007.11.20-22. 品川)

Junko Hori, Mingcong Wang, Hiroko Taniguchi, Yuki Kitahara, Shimon Sakaguchi, Miyuki Azuma：GITR-ligand-induced regulatory T cells as a mechanism of immune privilege of corneal allografts. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会(2007.11.20-22. 品川)

2) 講演・シンポジウム

Shimon Sakaguchi：Targeting regulatory T cells. Academy Colloquium-Translating Immunological tolerance into novel therapies for (pediatric) autoimmune disease(2007 1. 18-19. Amsterdam, Netherlands).

Shimon Sakaguchi：Natural regulation of the immune response. The Netherlands Academy for Natural Sciences(2007 1. 20. Amsterdam, Netherlands).

Shimon Sakaguchi：Keynote Addresss：The Rebirth of Suppressor/Regulatory T Cells The Keystone Symposia(2007 2.1-6.Vancouver, Canada)

Shimon Sakaguchi：2007 Bob Smith Lecture：Regulatory T cells in Immunological Self-Tolerance. University of Texas(2007 2.7-8. Houston, USA)

Shimon Sakaguchi: T Cells in Immunologic Tolerance to Self and Organ Transplants. BMT Tandem Meetings (2007.2.8-12. Denver, USA)

Masahiro Ono: Control of regulatory T cell function by the interaction of Foxp3 and AML1/Runx1. BSI Congress 2007 (2007.2.20-23. Glasgow, Scotland)

坂口志文: 制御性 T 細胞による免疫応答制御. 第 48 回京都肝疾患懇話会 (2007.2.24. 京都)

坂口志文: 自己免疫病と制御性 T 細胞. 千里ライフサイエンスセミナー免疫・感染症シリーズ第一回「自己免疫疾患とその制御」(2007.2.27. 大阪)

坂口志文: 制御性 T 細胞の自己免疫, 腫瘍免疫における共通基盤について. 43th 免疫懇話会 (2007.3.6 山口)

坂口志文: 制御性 T 細胞の基礎と癌免疫. 第 7 回バイオモジュレーション研究会 (2007.3.10. 東京)

野村尚史: CD25⁺CD4⁺制御性 T 細胞による免疫応答制御. 第 6 回 日本再生医療学会総会 (2007.3.13. 横浜)

Shimon Sakaguchi: Induction of tumor immunity by depleting naturally CD25⁺CD4⁺ Regulatory T Cells or attenuating their suppressive activity. The Charles Rodolphe Brupbacher Foundation Eight Scientific Symposium in conjunction with the Charles Rodolphe Brupbacher Cancer Research Award 2007 (2007.3.14-16. Zurich, Switzerland)

坂口志文: 制御性 T 細胞による免疫応答制御. 第 27 回日本医学会総会 (2007.4.6-8. 大阪)

Shimon Sakaguchi: Regulatory T Cells in Immunologic self-tolerance, autoimmune disease and tumor immunity. World Immune Regulation Meeting (2007.4.11-15. Davos, Switzerland)

廣田圭司, 坂口教子, 坂口志文: SKG マウスの関節炎惹起性 IL-17 産生 T 細胞の分化における IL-6 の役割. 第 51 回日本リウマチ学会総会 (2007.4.26-29. 横浜)

坂口志文: 制御性 T 細胞による免疫応答制御. 第 43 回日本肝臓学会総会 (2007.5.31-6.1)

Keiji Hirota: Contribution of IL-6 to spontaneous differentiation into IL-17-producing arthritogenic T cells in SKG mice EULAR Congress 2007 (2007.6.13-16. Barcelona, Spain)

坂口志文: 新しい免疫抑制剤, 免疫制御法の開発について. JST 基礎研究シーズン報告会 (2007.6.26. 東京)

坂口志文: 制御性 T 細胞による自己/非自己の識別と免疫応答制御. 神戸バイオメディカル学術交流会第 7 回定期交流会 (2007.6.27. 神戸)

坂口志文: Control of immune responses by natural regulatory T cells. Kyoto University 21st Century COE Symposium Integration of Transplantation Therapy and Regenerative Medicine (2007.6.29-30. 京都)

坂口志文: 自己免疫性関節炎を惹起する IL-17 産生 T 細胞の分化機構. 第 72 回インターフェロン・サイトカイン学会学術集会 (2007.7.5-6. 京都)

Shimon Sakaguchi: Regulatory T Cells for the control of immune responses. The 13th International Congress of Mucosal Immunology (2007.7.9-12. Tokyo)

Shimon Sakaguchi: Rheumatoid arthritis as a systemic autoimmune disease: insights from an animal model. Imperial College London Kennedy Institute of Rheumatology Seminar (2007.7.16. London, UK)

Shimon Sakaguchi: 2007 Mathilda and Terence Kennedy Lecture: Regulatory T cells in autoimmune disease. Imperial College London (2007.7.18. London, UK)

Masahiro Ono: Foxp3 controls T cell function via interacting with AML1/Runx1. RUNX 2007 (2007.8.20-22. Biopolis, Singapore)

Shimon Sakaguchi: Plenary Lecture-Hot Topics in Immunology: Regulatory T cells for the control of Immune Re-

- sponse. 13th International Congress of Immunology (2007.8.21-25. Rio de Janeiro, Brazil)
- Shimon Sakaguchi : Honorary Lecture : Regulatory T cells. The Baltic Summer School (2007.9.2-13. Lund, Sweden)
- Shimon Sakaguchi : Creating animal models for rheumatoid arthritis. The Baltic Summer School (2007.9.2-13. Lund, Sweden)
- Shimon Sakaguchi : Genetic basis of autoimmune disease due to regulatory T cell anomaly. From The Laboratory to the Clinic : From Immune Response Gene to Autoimmunity (2007.9.8-11. Oxford, UK)
- Masahiro Ono : Regulatory T cells in immunological self-tolerance and autoimmune disease. 21st World Congress of Dermatology (2007.9.30-10.5. Buenos Aires, Argentina)
- 坂口志文 : 制御性 T 細胞による免疫応答制御. 名古屋大学大学院特別講義 (2007.10.4. 名古屋)
- 坂口志文 : 制御性 T 細胞による免疫応答制御. 第 35 回日本臨床免疫学会総会 (2007.10.19-20. 大阪)
- 坂口志文 : 制御性 T 細胞による免疫応答制御. 第 22 回九州免疫血液研究会学術集会 (2007.10.20. 博多)
- Shimon Sakaguchi : The Molecular Basis of the Control of Regulatory T Cell Function : The New Century Health Care Promotion Foundation 11th International Congress (2007.10.26-27. Taipei, Taiwan)
- Shimon Sakaguchi : Control of Immune Responses by Regulatory T Cells : The New Century Health Care Promotion Foundation 11th International Congress (2007.10.26-27. Taipei, Taiwan)
- Shimon Sakaguchi : Thymus, Treg, Th17, and autoimmunity : insights from an animal model of autoimmune arthritis. Immune regulation in clinical disease (2007.11. 6-7. Pohang, Korea)
- Shimon Sakaguchi : Thymus, Treg, Th17, and autoimmunity : insights from an animal model of autoimmune arthritis. The 55th Fall Conference of The Korean Association of Immunobiologists (2007.11. 8-9. Seoul, Korea)
- Kajsa Wing : Contribution of Treg-associated molecules, in particular CTLA-4, to Treg-mediated immune suppression in vivo and in vitro. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 (2007.11.20-22. 品川)
- 坂口志文 : 制御性 T 細胞・最近の話題. テクニカルセミナー 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 (2007.11.20-22. 品川)
- 坂口志文 : 制御性 T 細胞による免疫制御. 東北大学大学院特別講義 (2007.11.29. 仙台)
- 坂口志文 : 制御性 T 細胞による免疫恒常性の維持. 第 1 回年齢軸生体恒常性研究会シンポジウム (2007.11.30. 東京)
- 坂口志文 : 制御性 T 細胞による免疫応答制御. 免疫難病・感染症等の先進医療技術 第 4 回公開シンポジウム (2007.12.14. 品川)
- Masahiro Ono : Control of regulatory T cell function by Foxp3 and AML1/Runx1. BMB 2007 (2007.12.11-15. 横浜)
- Shimon Sakaguchi : Michael Sela Lecture : Regulatory T cells for immune tolerance and homeostasis. Weizmann Institute of Science (2007.12.16. Tel Aviv, Israel)
- Shimon Sakaguchi : Thymus, Treg, Th17, and Autoimmunity : Insights from an Animal Model of Autoimmune Disease. Weizmann Institute of Science (2007.12.17. Acre, Israel)
- Shimon Sakaguchi : The 23rd Annual Richard K. Gershon Memorial Lecture : Regulatory T cells for immune tolerance and homeostasis. Yale University (2007.12.20. New Haven, USA)
- (受賞)
- 平成 19 年度 科学技術文部大臣表彰科学技術賞
- 平成 19 年度 上原賞

生体システム制御学分野 Department of Immunobiology and Hematology

分野主任 教授 長澤 丘司

Prof. Takashi Nagasawa

【研究概要】

造血幹細胞は、骨髄で、リンパ球を含むすべての血液細胞を一生涯にわたり恒常的に産生し続ける代表的な組織幹細胞であり、血液学や幹細胞生物学の研究対象として重要であるだけでなく、臨床医学においては再生医療における細胞移植療法のプロトタイプである骨髄幹細胞移植に用いられ、白血病をはじめとする悪性腫瘍(がん)の薬剤による完全治癒に大いに貢献している。造血幹細胞は、骨髄の中に想定されているニッチ(臓器内で必須の分子を供給する特別な微小環境)で、必須の分子を産生するストローマ細胞と呼ばれる由来が不明の間質細胞により維持されていると推測されて来た。2003年に米国の Li らは骨辺縁の骨芽細胞が造血幹細胞ニッチであると報告したが、2005年に Morrison らは、造血幹細胞を濃縮する分画の可視化に成功し、造血幹細胞の多くは骨髄腔内で網の目のように分布する洞様毛細血管の周囲に存在し、骨辺縁の造血幹細胞は少数であると報告した。しかし、いずれの報告においても、純粋な造血幹細胞が可視化されたとは言い切れない他、ニッチの構成細胞や、造血幹細胞の増殖や維持に必須のニッチよりのシグナルも十分明らかでない。

私たちは、これまでに、ケモカイン CXCL12 とその生理的受容体 CXCR4 が、胎児肝、骨髄での B リンパ球の産生や胎生期における造血幹細胞の骨髄へのホーミング(細胞が臓器に移動、定着すること)に必須であることを明らかにし、CXCL12 を高発現する細胞が胎児骨髄の血管周囲に局在し、造血幹細胞のホーミングにおけるニッチとして働いている可能性を示した(Nagasawa, T. et al. *Nature* (1996); Tachibana, K. et al. *Nature* (1998); Egawa, T. et al. *Immunity* (2001); Ara, T. et al. *Immunity* (2003))。また、CXCL12 を高発現する細胞(以下 CXCL12-abundant reticular (CAR)細胞)が、成体骨髄において間質の細網細胞(ストローマ細胞)の一部として存在し、早期の B リンパ球前駆細胞や、二次リンパ器官で抗原と反応することにより最終分化し骨髄に戻ってくる形質細胞(抗体産生に特化した細胞)、多能性未分化造血細胞の大部分が、CAR 細胞に接着していることを見出した(Tokoyoda, T. et al. *Immunity* (2004))。

CXCL12 欠損マウスと CXCR4 欠損マウスは胎生期に致死であるが、私たちは、誘導性遺伝子欠損マウスシステムを用いて、成体の CXCR4 遺伝子を欠損させ、成体骨髄の造血幹細胞における CXCL12-CXCR4 シグナルの役割を解析したところ、誘導性 CXCR4 遺伝子欠損マウス骨髄では、造血幹細胞は存在するがその細胞数は、対照マウスと比較して著明に減少していた。誘導性 CXCR4 遺伝子欠損マウスでは、より分化が進んだ多能性前駆細胞の細胞周期が亢進しており、その細胞数は対照マウスと同様に保たれていた。野生型および CXCR4 欠損骨髄細胞が混在したキメラマウスの解析より、誘導性 CXCR4 遺伝子欠損マウスでは、造血幹細胞の CXCR4 の欠損によりその数が減少し、骨髄のニッチを含む微小環境が多能性前駆細胞の細胞周期を亢進させるシグナルを出し、骨髄球系細胞や赤血球系細胞数が維持されていることが示唆された。これらの結果より、CXCL12-CXCR4 シグナルは、成体骨髄において、造血幹細胞数の維持に必須であることが明らかになった。一方、CXCL12 の生理的な発現細胞を可視化することができる CXCL12 遺伝子座に GFP 遺伝子を挿入したマウス(CXCL12/GFP ノックインマウス)を用いて成体骨髄での CXCL12 の発現をより詳細に検討したところ、洞様毛細血管の大部分は CAR 細胞に取り囲まれて

おり、造血幹細胞を濃縮する分画内の細胞の大部分が CAR 細胞と接着していた。一部の造血幹細胞を濃縮する分画の細胞は、骨辺縁付近に局在していたが、それらの細胞の大部分は CAR 細胞と接着していた。以上より、CXCL12-CXCR4 シグナルは、成体骨髄において、造血幹細胞数の維持に必須であることが明らかとなり、骨辺縁以外にもびまん性に分布し、洞様毛細血管の周囲を取り囲む CXCL12 を高発現する CAR 細胞が造血幹細胞ニッチの本質的な構成細胞である可能性が示唆された (Sugiyama, T. et al. *Immunity* (2006))。

上記の私たちの研究を含め、造血幹細胞ニッチと造血幹細胞の局在を報告した論文では、造血幹細胞を濃縮した分画の細胞の局在を解析したものであり、造血幹細胞そのものを可視化したとはいえない。そこで、本年は、造血幹細胞をより確実に可視化し、造血幹細胞とそのニッチの骨髄における局在の解明を試みる研究を進めている。また、私たちが造血幹細胞ニッチの重要な構成細胞であると提唱している CAR 細胞がどのような細胞であるかについての研究も進行している。

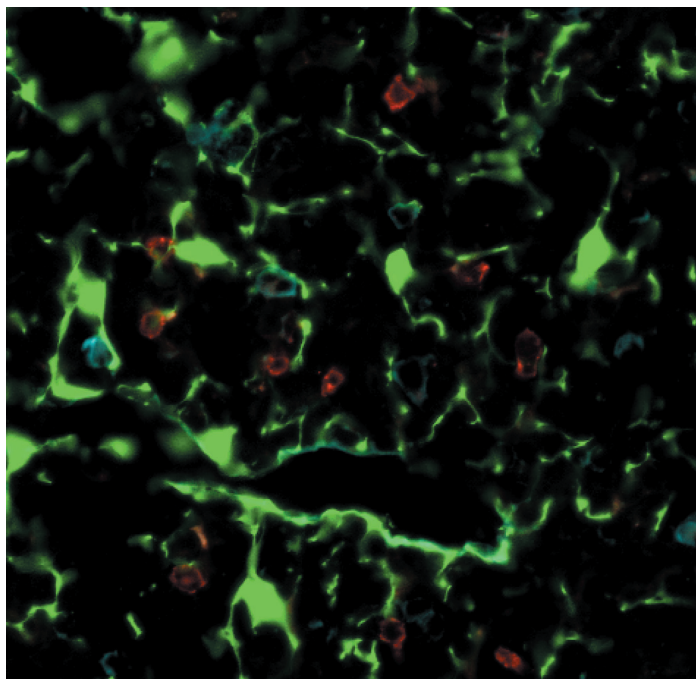
*

一方、免疫学分野において、最近、形質細胞様樹状細胞(以下 pDC)という新しい免疫担当細胞が注目されている。pDC は、核酸刺激により一型インターフェロンを大量に産生するという特徴を持ち、活性化させると獲得免疫系での主たる抗原提示細胞である樹状細胞(DC, pDC と区別する場合は cDC と呼ばれることもある。)と似た形態になることから、発見された当初は未分化な DC の一種であると考えられた。近年 pDC は、ウイルス感染における一型インターフェロンの中心的産生細胞であり、抗ウイルス自然免疫、獲得免疫に中心的役割を果たすと考えられている。最近の研究で、骨髄の pDC が発現する細胞表面抗原が明らかとなり、最も初期の B リンパ球と考えられていた分画(Fr. A)に含まれることが示された。私たちは、以前 Fr.A の発生に CXCL12-CXCR4 シグナルが必須であることを確認しているので、CXCR4 欠損マウスの pDC の発生を検討した。

CXCR4 欠損胎児肝造血幹細胞を放射線照射し内在性する血液細胞を枯渇させたマウスに移植し、血液細胞が CXCR4 欠損細胞から構成されるキメラマウスを作製し、解析したところ、フローサイトメトリー解析で、CXCR4 欠損により、骨髄、脾臓の pDC 細胞分画の細胞数、CpG 刺激で一型インターフェロンを産生する細胞が著減していた。MxCre/loxP システムにより pIpC の投与により、CXCR4 遺伝子を欠損させる誘導性遺伝子欠損マウスシステムを用いて、成体の CXCR4 遺伝子を欠損させた条件下 CXCR4 欠損マウスにおいても同様に、CXCR4 欠損により、骨髄、脾臓の pDC 細胞分画の細胞数が著減していた。このマウスでは、脾臓に存在する pDC でない樹状細胞(cDC)の細胞数は野生型マウスと著明な差が認められなかった。次に骨髄内の pDC の局在を pDC 特異的細胞表面抗原 PDCA-1 を用いた免疫染色で解析したところ、大部分の PDCA-1+細胞は、CAR 細胞の突起と接着しており、洞様毛細血管の周囲にはほとんど認められなかった。造血幹細胞が洞様毛細血管に接着しているとすると、pDC に分化すると血管間骨髄腔に移動すると考えられる。

これまで pDC の発生に必須のサイトカインは FL のみしか明らかではなかったが、今回 CXCL12 も必須であることが明らかになった。以上より、CXCL12 は、骨髄での造血幹細胞、B リンパ球、pDC の発生に必須であり、その主要産生細胞である CAR 細胞はこれらの細胞のニッチとして機能していることが示唆され、私たちの知見は、血液細胞の発生における微小環境による時間空間的制御機構の理解を一層進めた。

Chemokines are a family of small structurally related molecules that were recognized originally for their ability to regulate cell trafficking in inflammation. We have shown that a chemokine, CXC chemokine ligand 12/stromal cell-derived factor/pre-B-cell growth stimulating factor (CXCL12/SDF-1/PBSF) and its primary physiologic receptor CXCR4 are essential for embryonic viability, development of B lymphocytes, colonization of bone marrow by hema-



骨髓内の pDC と CAR 細胞の局在。成体骨髓の pDC 特異的細胞表面抗原 PDCA-1 を用いた免疫染色によると、大部分の PDCA-1+細胞は、CAR 細胞の突起と接着しており、洞様毛細血管の周囲にはほとんど認められなかった。

topoietic cells, colonization of the gonads by primordial germ cells (PGCs) and cardiovascular formation during ontogeny (Nagasawa, T. et al. *Nature* 382, 635-638 (1996) ; Tachibana, K. et al. *Nature* 393, 591-594 (1998) ; Egawa, T. et al. *Immunity* 15, 323-334 (2001)).

On the other hand, we have found that a small population of stromal cells expressing high amounts of CXCL12, which we call CXCL12-abundant reticular (CAR) cells are scattered throughout bone marrow. Most of multipotent hematopoietic progenitors, pre-pro-B cells and the end-stage B lymphocytes plasma cells were attached to CAR cells, suggesting that CAR cells function as the special microenvironments niches for primitive hematopoietic progenitors and B lymphocytes (Tokoyoda, T. et al. *Immunity* 20, 707-718 (2004)).

In addition, we have shown that the induced deletion of CXCR4 in adult mice, resulted in severe reduction of HSC numbers and increased sensitivity to myelotoxic injury, although it did not impair expansion of the more mature progenitors. Most HSCs were found in contact with CAR cells, which surrounded sinusoidal endothelial cells or were located near the endosteum. These findings indicate that CXCL12-CXCR4 signaling plays an essential role in maintaining the quiescent HSC pool, and suggest that CAR cells appear to be a key component of HSC niches, including both vascular and endosteal niches in adult bone marrow (Sugiyama, T. et al. *Immunity* 25, 977-988 (2006)).

*

Plasmacytoid dendritic cells (pDCs), also known as type I interferon (IFN)-producing cells are thought to play central roles in antiviral immunity and the pathogenesis of some autoimmune diseases. pDCs are produced from HSCs in bone marrow. However, the environmental regulation of the development of pDCs is not fully understood. In 2007 we showed that the numbers of pDCs and their earliest progenitors were severely decreased in the absence of CXCR4 in vivo. In vitro, CXCL12 induces a significant increase in pDC numbers generated from primitive hematopoietic cells, and pDCs and their progenitors migrate to CXCL12. In addition, most pDCs are in contact with CAR cells in the intersi-

nal space of bone marrow although many primitive hematopoietic cells adjoin CAR cells surrounding sinusoidal endothelial cells or residing near the bone surface. Thus we identified CXCL12 as a key regulator of pDC development produced by cellular niches, providing new targets for pDC therapeutic control.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Kohara, H., Omatsu, Y., Sugiyama, T., Noda, M., Fujii, N. and Nagasawa, T. Development of plasmacytoid dendritic cells requires CXCL12-CXCR4 chemokine signaling. *Blood* 110 ; 4153-4160, 2007.

Nagasawa T. The chemokine CXCL12 and regulation of HSC and B lymphocyte development in the bone marrow niche. *Adv. Exp. Med. Biol.* 602 : 69-75, 2007.

2) 和文総説・図書

長澤丘司：ケモカインシステムと免疫系構築と免疫病態 免疫応答と免疫病態の統合的分子理解. 谷口維紹・山本一彦編 南山堂(2007)

長澤丘司：造血幹細胞ニッチとケモカイン CXCL12. 医学のあゆみ 221 No.7, 563-568(2007)

長澤丘司：幹細胞とニッチ. 医学のあゆみ 221 No.7, 549-550(2007)

3) 招待講演

長澤丘司：造血幹細胞・リンパ球ニッチとケモカイン CXCL12:第4回神戸先端血液学フォーラム 特別講演(2007.1.13. 神戸)

長澤丘司：骨髄の造血幹細胞ニッチとケモカイン CXCL12 : 第25回高峰カンファレンス Osteoimmunology(2007.3.4. 東京)

長澤丘司, 杉山立樹：造血幹細胞,リンパ球形成を支持する骨髄のニッチ細胞とケモカイン CXCL12 : 第28回日本炎症・再生医学会シンポジウム(2007.8.2. 東京)

Nagasawa, T. : Chemokines in Hematopoiesis. : The 12th Annual Summer Meeting of the Korea Society of Hematopoietic Stem Cell Transplantation (2007.8.24-25. Jeju, Korea)

長澤丘司：造血幹細胞ニッチとケモカイン CXCL12:第56回神奈川血液研究会 特別講演(2007.9.8. 横浜)

長澤丘司：ケモカイン CXCL12-CXCR4 シグナルと血液, 血管形成:第11回 Molecular Cardiovascular Conference(2007.9.15. 余市郡赤井川 北海道)

Nagasawa, T. : CXCL12-CXCR4 chemokine signaling and niches for hematopoietic stem cells (HSCs) and B lymphocytes:第37回日本免疫学会シンポジウム(2007.11.21. 東京)

長澤丘司：造血幹細胞ニッチとケモカイン CXCL12:第57回大阪血液疾患懇話会 特別講演(2007.12.15. 大阪)

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会発表

Kohara, H., Omatsu, Y., Sugiyama, T., Noda, M., and Nagasawa, T.: Role of CXCL12-CXCR4 chemokine signaling in the generation of plasma cytoid dendritic cells: 第 37 回日本免疫学会 (2007.11.21, 東京)



生体再建学分野
Department of Tissue Reconstruction

客員准教授 池川 志郎
Visiting Assoc. Prof. Shiro Ikegawa

【研究概要】

変形性関節症、椎間板ヘルニア、後縦靱帯骨化症、強直性脊椎炎といった骨・関節の難病、生活習慣病の遺伝的要因を明らかにすることを目指している。これらの疾患は、いずれも多くの患者を苦しめている「ありふれた」疾患 (common disease) である。たとえば、変形性関節症は、我が国だけでも、500~700 万人もの患者がおり、椎間板ヘルニアで手術を受ける患者は年間 5 万人以上である。これら骨・関節の common disease/生活習慣病は、痛みや関節の機能障害のために多くの患者の QOL を損なっている。また、加齢と共にその頻度が急速に増大するものが多く、高齢化社会の到来と共に、病気に苦しむ患者だけでなく、社会全体にとっても大きな問題になっている。しかし、どれも目下の所、根本的な治療手段がない。

これらの疾患は、複数の遺伝的要因 (感受性遺伝子) と運動、栄養などの環境因子の相互作用により発症する多因子遺伝病と考えられる。分子遺伝学、ゲノム医学の手法を用いて、目の前の現実の患者の病気を出発点に、感受性遺伝子を同定し、分子レベルで病態を解明し、画期的な診断法・治療法を開発したい。またその過程で、骨格の形成や骨・軟骨の成長、発達のメカニズムを解明していきたい。

Recent advance in molecular genetics has revealed genetic factors, play a critical role in etiology and pathogenesis of “common” diseases. Our goal is to clarify the genetic factors implicated in the etiology of common bone and joint diseases including osteoarthritis. Though genetic analysis including genome-wide linkage and association studies, we will identify and characterize susceptibility genes of the diseases and clarify their molecular mechanism.

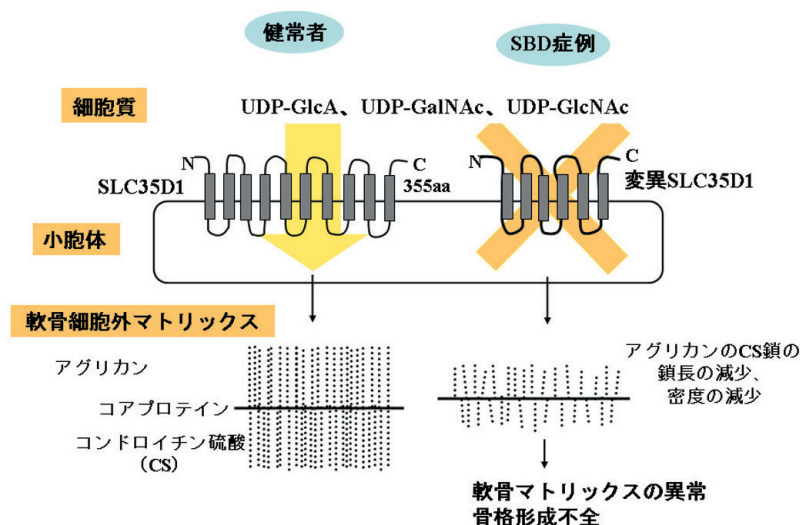


図1 SLC35D1の機能とSBD(Schneckenbecken dysplasia)発症のメカニズム。

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Mio, F., Chiba, K., Hirose, Y., Kawaguchi, Y., Mikami, Y., Oya, T., Mori, M., Kamata, M., Matsumoto, M., Ozaki, K., Tanaka, T., Takahashi, A., Kubo, T., Kimura, T., Toyama, Y., Ikegawa, S. : A Functional Polymorphism in COL11A1, Which Encodes the alpha 1 Chain of Type XI Collagen, Is Associated with Susceptibility to Lumbar Disc Herniation. *Am. J. Hum. Genet.* **81** : 1271-1277 (2007)
- Hiraoka, S., Furuichi, T., Nishimura, G., Shibata, S., Yanagishita, M., Rimoin, D.L., Superti-Furga, A., Nikkels, P.G., Ogawa, M., Katsuyama, K., Toyoda, H., Kinoshita-Toyoda, A., Ishida, N., Isono, K., Sanai, Y., Cohn, D.H., Koseki, H., Ikegawa, S. : Nucleotide-sugar transporter SLC35D1 is critical to chondroitin sulfate synthesis in cartilage and skeletal development in mouse and human. *Nat. Med.* **13** : 1363-1367 (2007)
- Nakashima, E., Tran, J.R., Welting, T.J., Pruijn, G.J., Hirose, Y., Nishimura, G., Ohashi, H., Schurman, S.H., Cheng, J., Candotti, F., Nagaraja, R., Ikegawa, S., Schlessinger, D. : Cartilage hair hypoplasia mutations that lead to RMRP promoter inefficiency or RNA transcript instability. *Am. J. Med. Genet.* **143A** : 2675-2681 (2007)
- Toiviainen-Salo, S., Mayranpaa, M.K., Durie, P.R., Richards, N., Gryn timer, M., Ellis, L., Ikegawa, S., Cole, W.G., Rommens, J., Marttinen, E., Savilahti, E., Makitie, O. : Shwachman-Diamond syndrome is associated with low-turn-over osteoporosis. *Bone* (2007) [Epub ahead of print]
- Nakajima, M., Kizawa, H., Saitoh, M., Kou, I., Miyazono, K., Ikegawa, S. : Mechanisms for asporin function and regulation in articular cartilage. *J. Biol. Chem.* **282** : 32185-32192 (2007)
- Kou, I., Nakajima, M., Ikegawa, S. : Expression and regulation of the osteoarthritis-associated protein asporin. *J. Biol. Chem.* **282** : 32193-32199 (2007)
- Masuya, H., Nishida, K., Furuichi, T., Toki, H., Nishimura, G., Kawabata, H., Yokoyama, H., Yoshida, A., Tominaga, S., Nagano, J., Shimizu, A., Wakana, S., Gondo, Y., Noda, T., Shiroishi, T., Ikegawa, S. : A novel dominant negative

- mutation in *Gdf5* generated by ENU mutagenesis impairs joint formation and causes osteoarthritis in mice. *Hum. Mol. Genet.* **16** : 2366-2375 (2007)
- Shi, D., Nakamura, T., Dai, J., Yi, L., Qin, J., Chen, D., Xu, Z., Wang, Y., Ikegawa, S., Jiang, Q. : Association of the aspartic acid-repeat polymorphism in the asporin gene with age at onset of knee osteoarthritis in Han Chinese Population. *J. Hum. Genet.* **52** : 664-667 (2007)
- Yamada, S., Tomoeda, M., Ozawa, Y., Yoneda, S., Terashima, Y., Ikezawa, K., Ikegawa, S., Saito, M., Toyosawa, S., Murakami, S. : PLAP-1/asporin : A novel negative regulator of periodontal ligament mineralization. *J. Biol. Chem.* **282** : 23070-23080 (2007)
- Nakamura, T., Shi, D., Tzetzis, M., Rodriguez-Lopez, J., Miyamoto, Y., Tsezou, A., Gonzalez, A., Jiang, Q., Kamatani, N., Loughlin, J., Ikegawa, S. : Meta-analysis of association between the ASPN D-repeat and osteoarthritis. *Hum. Mol. Genet.* **16** : 1676-1681 (2007)
- Nii, E., Urawa, M., Nishimura, T., Kitou, H., Ikegawa, S., Shimizu, S., Taneda, H., Uchida, A., Niikawa, N. : Acrodysostosis with unusual iridal color changing with age. *Am. J. Med. Genet. B. Neuropsychiatr. Genet.* **144** : 824-825 (2007)
- Nishimura, G., Nakashima, E., Hirose, Y., Cole, T., Cox, P., Cohn, D.H., Rimoin, D.L., Lachman, R.S., Miyamoto, Y., Kerr, B., Unger, S., Ohashi, H., Superti-Furga, A., Ikegawa, S. : The Shwachman-Bodian-Diamond syndrome gene mutations cause a neonatal form of spondylometaphyseal dysplasia(SMD)resembling SMD Sedaghatian type. *J. Med. Genet.* **44** : e73 (2007)
- Miyamoto, Y., Matsuda, T., Kitoh, H., Haga, N., Ohashi, H., Nishimura, G., Ikegawa, S. : A recurrent mutation in type II collagen gene causes Legg-Calve-Perthes disease in a Japanese family. *Hum. Genet.* **121** : 625-629 (2007)
- Miyamoto, Y., Mabuchi, A., Shi, D., Kubo, T., Takatori, Y., Saito, S., Fujioka, M., Sudo, A., Uchida, A., Yamamoto, S., Ozaki, K., Takigawa, M., Tanaka, T., Nakamura, Y., Jiang, Q., Ikegawa, S. : A functional polymorphism in the 5' UTR of *GDF5* is associated with susceptibility to osteoarthritis. *Nat. Genet.* **39** : 529-533 (2007)
- Yabuki, S., Kikuchi, S., Ikegawa, S. : Spinal extradural arachnoid cysts associated with distichiasis and lymphedema. *Am. J. Med. Genet. A* **143** : 884-887 (2007)
- Nakajima, M., Haga, N., Takikawa, K., Manabe, N., Nishimura, G., Ikegawa, S. : The ACVR1 617G>A mutation is also recurrent in three Japanese patients with fibrodysplasia ossificans progressiva. *J. Hum. Genet.* **52** : 473-475 (2007)
- Nishimura, A., Sakai, H., Ikegawa, S., Kitoh, H., Haga, N., Ishikiriya, S., Nagai, T., Takada, F., Ohata, T., Tanaka, F., Kamasaki, H., Saitsu, H., Mizuguchi, T., Matsumoto, N. : *FBN2*, *FBN1*, *TGFBR1*, and *TGFBR2* analyses in congenital contractural arachnodactyly. *Am. J. Med. Genet. A* **143** : 694-698 (2007)
- Ebana, Y., Ozaki, K., Inoue, K., Sato, H., Iida, A., Lwin, H., Saito, S., Mizuno, H., Takahashi, A., Nakamura, T., Miyamoto, Y., Ikegawa, S., Odashiro, K., Nobuyoshi, M., Kamatani, N., Hori, M., Isobe, M., Nakamura, Y., Tanaka, T. : A functional SNP in *ITIH3* is associated with susceptibility to myocardial infarction. *J. Hum. Genet.* **52** : 220-229 (2007)
- Bondestam, J., Mayranpaa, M.K., Ikegawa, S., Marttinen, E., Kroger, H., Makitie, O. : Bone biopsy and densitometry findings in a child with Camurati-Engelmann disease. *Clin. Rheumatol.* **26** : 1773-1777 (2007)
- Walter, K., Tansek, M., Tobias, E.S., Ikegawa, S., Coucke, P., Hyland, J., Mortier, G., Iwaya, T., Nishimura, G., Superti-

Furga, A., Unger, S.: COL2A1-related skeletal dysplasias with predominant metaphyseal involvement. Am. J. Med. Genet. A **143**: 161-167 (2007)

2) 総説

Ikegawa, S.: New gene associations in osteoarthritis: what do they provide, and where are we going? Curr. Opin. Rheumatol. **19**: 429-434 (2007)

◆ 学会等の講演 ◆

1) 講演・シンポジウム

池川志郎：骨系統疾患の遺伝医学，東京大学医科学研究所・遺伝医学研究会(2007.2.19. 東京)

Ikegawa, S.: Molecular pathmechanism of osteoarthritis relating to asporin. Gordon Research Conference (2007.3.7. LA)

池川志郎：骨・関節疾患のゲノム解析－疾患感受性遺伝子の同定から医療へ 第27回日本医学会総会(2007.4.6. 大阪)

池川志郎：変形性関節症の遺伝子解析－疾患感受性遺伝子から分子病態へー，第51回日本リウマチ学会総会・学術集会(招待講演)(2007.4.28. 横浜)

池川志郎：脊椎のリウマチ性疾患の遺伝子解析，第51回日本リウマチ学会総会・学術集会(シンポジウム)(2007.4.28. 横浜)

池川志郎：変形性関節症の遺伝子解析，第80回日本整形外科学会学術総会(シンポジウム)(2007.5.27. 神戸)

Ikegawa, S.: Unraveling the genetic basis of common bone and joint diseases. The 8th Regional Osteoporosis Conference (2007.5.20. Hong Kong)

Ikegawa, S.: Phenotypic extension of SBDS mutations. 4th International Congress on Shwachman-Diamond Syndrome (2007.6.11. Boston)

Ikegawa, S.: Asporin, a susceptibility gene for osteoarthritis. EULAR 2007 (Annual European Congress of Rheumatology) (2007.6.14. Barcelona)

池川志郎：小児整形外科疾患と遺伝－遺伝子解析の基礎と現状，第8回埼玉整形外科研究会(2007.7.14. 埼玉)

Ikegawa, S.: GDF5 and OA of Human and of Mouse. 8th Meeting of the International Skeletal Dysplasia Society (2007.7.19. Albi)

Ikegawa, S.: Phenotypic extension of SBDS mutations. 8th Meeting of the International Skeletal Dysplasia Society (2007.7.19. Albi)

池川志郎：ヒトとマウスの遺伝学の融合による骨・関節疾患の原因遺伝子へのアプローチ，STR/Ort マウス研究会(招待講演)(2007.8.18. 横浜)

池川志郎：メンデル遺伝形式をとる骨・関節疾患，理研・東大医科研合同開催 医薬系関係者のための遺伝医学夏季集中セミナー(招待講演)(2007.8.25. 東京)

池川志郎：common disease としての骨・関節疾患，理研・東大医科研合同開催 医薬系関係者のための遺伝医学夏季集中セミナー(招待講演)(2007.8.25. 東京)

池川志郎：骨系統疾患の診断と治療，第14回日本小児整形外科学会教育研修会(招待講演)(2007.8.26. 東京)

池川志郎：骨・関節疾患のゲノム解析－疾患感受性遺伝子の同定から医療へ，日本人類遺伝学会第 52 回大会(招待講演)(2007.9.14. 東京)

池川志郎：骨・関節疾患の遺伝子解析－ゲノムから分子病態へ，病態から治療へ－，第 2 回奈良県整形外科研究会(招待講演)(2007.10.6. 奈良)

Ikegawa, S.: Of Human: Integrated approach of human and mouse genetics towards bone and joint diseases. The Indian Society of Developmental Biologists (ISDB) (2007.10.18. Agra)

池川志郎：骨・関節疾患への分子遺伝学的アプローチ－骨系統疾患 (Skeletal Dysplasia) の遺伝子解析－，第 22 回日本整形外科学会基礎学術集会(招待講演)(2007.10.26. 静岡)

池川志郎：骨・関節疾患のゲノム解析，第 9 回日本骨粗鬆症学会(招待講演)(2007.11.16. 東京)

生体組織工学研究部門

生体分子設計学分野 Department of Cellular Differentiation

分野主任 教授 開 祐司

Prof. Yuji Hiraki

【研究概要】

本研究分野では、組織血管化、軟骨・腱・靱帯形成とその再生修復の分子機構の解明を主たるテーマとして、動物モデル、細胞培養系を駆使して分子レベルでの解析を行っている。現在の研究テーマは、以下の通りである。

1. Chondromodulin-I に関する研究

本研究分野では、軟骨が無血管であることに着目して、ウシ胎仔骨端軟骨から血管新生抑制因子 Chondromodulin-I (ChM-I) を精製・クローニングした。ChM-I は主に軟骨や心臓などの無血管領域において発現し、血管内皮細胞の増殖・管腔形成阻害活性を有する。ノックアウトマウスにおいては、加齢に伴い、本来無血管な心臓弁に異常な血管化が引き起こされることから、ChM-I が組織の無血管性維持に重要な役割を果たすことも明らかとなった。しかしながら、血管内皮細胞に対する ChM-I の作用機序については未だ不明な点が多い。そこで、組換え ChM-I タンパク質を調製し、血管新生の早期制御段階である血管内皮細胞の遊走過程に着目して解析を行った。ChM-I は血管内皮細胞特異的に VEGF または FGF-2 への細胞遊走を阻害した。ChM-I の存在下では、VEGF 刺激に伴う血管内皮細胞のアクチン細胞骨格、および接着斑の再編成に異常が観察され、このことが運動性低下の大きな要因と考えられた。また、細胞接着や VEGF シグナルが ChM-I の直接的な標的でないことも示唆され、ChM-I はそれ以外のシグナル伝達系を介して作用する可能性が考えられた。現在、ChM-I の活性ドメインを絞り込み、その作用ターゲットを分子レベルで解析している。

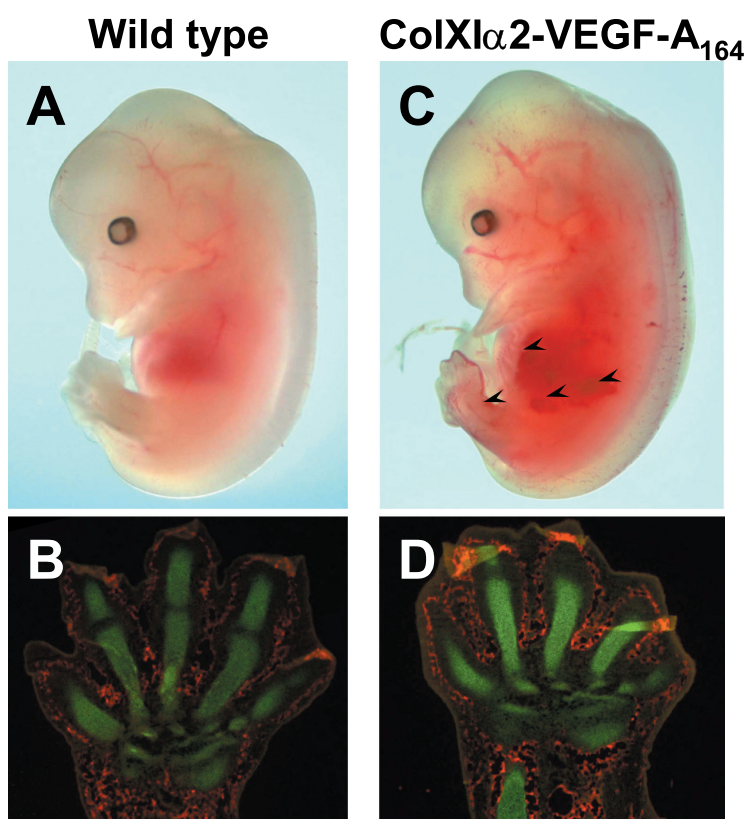
2. 生理活性物質を固定化した多角体による細胞増殖・分化制御

再生医療への応用に向けて、特定の部位の組織の細胞や幹細胞の増殖、分化を生理活性物質によって制御する新しいシステムの開発に取り組んでいる。昆虫ウイルスである細胞質多角体病ウイルス (CPV) は、宿主である昆虫の冬眠という発育ステージに自らのステージを合わせるため、宿主の細胞質中に多数のウイルス粒子を封入したタンパク質結晶のカプセルである多角体を形成する。多角体は宿主である昆虫の中腸内腔の消化液と同じアルカリ性 (pH10~11) の溶液にのみ溶解する性質を持つので、ウイルス粒子は長期間外的環境下に放置されてもその感染力を保つことが可能となる。ウイルス粒子は、外殻タンパク質 (VP3) と多角体タンパク質 (ポリヘドリン) との間の特異的相互作用によって、多角体の中に封入される。このために、外殻蛋白質の代わりに VP3 を使って任意の外来蛋白質を多角体に固定化することができる。特に、本研究で利用したカイコ細胞質多角体は、蛋白質結晶としては稀な一辺が 1.5 mm の立方体結晶であることから、マイクロマニピュレーションが可能な固相化成長因子の創製に適している。そこで、VP3 を Fibroblast growth factor 2 (FGF-2) の N/C 末端に付加し、これらを発現する組換えウイルスを作成し、ポリヘドリンを発現する組換えウイルスを Sf21 細胞に同時に接種し、FGF-2 を多角体に固定化した。線維芽細胞や前駆軟骨細胞に多角体固定化 FGF-2 を添加すると、MAP kinase の p44/p42 のリン酸化が検出

され細胞増殖が促進された。増殖促進活性は、FGF 受容体阻害剤である SU5402 によって抑制されることから、多角体固定化 FGF-2 は FGF 受容体を介して作用していると考えられた。培養皿上に、多核体固定化 FGF-2 をスポットすると、近傍の細胞の増殖のみを促進することから、単一細胞レベルでも細胞の挙動を簡便に制御する新しいツールになることが期待される。

3. 腱・靭帯特異的な転写制御領域の解析

腱・靭帯は、栄養血管が極めて乏しいため、外傷などの瞬間的な外力によって、一旦、損傷すると、機能的、生体力学的に十分に再生させることは極めて困難である。これらの組織の機能障害は関節症などとも密接に関連しており、運動器の組織再生の重要な標的となっている。しかしながら、これまで、腱・靭帯細胞を特徴付ける特異的な分子マーカーが知られていなかったため、その分化誘導機構の解析はほとんどなされていなかった。一方、我々が ChM-I 関連遺伝子として同定した TeM(Tenomodulin)は、腱・靭帯を含む強靭結合組織の分化に伴って発現が誘



軟骨性骨原基の血管侵入抵抗性

XI 型コラーゲン遺伝子の promoter/enhancer の制御下で、Vascular Endothelial Growth Factor-A₁₆₄(VEGF-A₁₆₄)を軟骨組織特異的に発現させた transgenic mouse(tg)(Col11a2-VEGF-A₁₆₄ tg)胚を作成し、軟骨性骨原基の血管侵入抵抗性を検証した。13.5 日目の Wild type 胚(A)及び Col11a2-VEGF-A₁₆₄ tg 胚(C)の側面図を示す。Col11a2-VEGF-A₁₆₄ tg 胚では、過剰な血管形成や出血が見られる(C 黒矢頭)。Wild type(B), 及び Col11a2-VEGF-A₁₆₄ tg 胚(D)の前肢の組織切片で蛍光抗体染色を行い、抗 PECAM-1 抗体(赤)で血管内皮細胞を、抗 II 型コラーゲン抗体(緑)で軟骨を染色した。Col11a2-VEGF-A₁₆₄ tg 胚では、Wild type 胚(B)と比較すると、軟骨周囲の間葉組織に過剰な血管新生が観察されるが、軟骨組織は無血管のままである(D)。

Cartilage shows a strong resistance to vascular invasion from the surrounding mesenchymal tissues. To analyze the anti-angiogenic property of cartilage, transgenic mice overexpressing mouse VEGF-A₁₆₄ in cartilage under the control of the mouse Col11a2 promoter/enhancer (Col11a2-VEGF-A₁₆₄ tg) were generated. Lateral views of E13.5 wild type (A) and Col11a2-VEGF-A₁₆₄ tg (C) are shown. Hemorrhages are observed in the Col11a2-VEGF-A₁₆₄ tg (arrowheads in C). Double immunostaining for PECAM (red) and Col2a1 (green) in the forelimb from an E13.5 wild type mouse (B) or a Col11a2-VEGF-A₁₆₄ tg (D) is shown. In a wild type embryo at E13.5 (A), the cartilaginous primordia of phalangeal or carpal bones were avascular, while surrounding mesenchymal tissues were well vascularized as evidenced by the positive staining of PECAM (B). Although hypervascularization was observed in the surrounding mesenchymal tissues, VEGF-A₁₆₄ overexpressing cartilage remained avascular (D).

導されるⅡ型膜貫通型の血管新生抑制因子である。そこで、TeMの腱・靱帯特異的な転写制御機構を解析することによって、腱・靱帯細胞の分化を制御するメカニズムを明らかにする研究を開始した。これまでに、初代トランスジェニックマウス胚を用いて、*TeM* 遺伝子の転写開始点上流-11 kb から+11.6 kb までの領域で、腱・靱帯に特異的な転写制御活性を有する2つのゲノム領域があることを見出している。

4. 関節軟骨の修復に関する研究

血管に富み旺盛な再生能力をもつ骨組織とは逆に、関節軟骨は極めて再生能力に乏しい。関節軟骨が損傷を受けると容易に変形性関節炎へ移行し、硝子軟骨で再生させることは極めて困難である。関節軟骨全層欠損・修復モデルは、軟骨初期分化を解析する有効な *in vivo* モデルで、軟骨再生に必要な細胞増殖・分化制御の解明に寄与すると思われる。そこで、本研究室ではこれを用いて、軟骨再生の機構を解析している。すなわち、我々はFibroblast growth factor-2が骨髄由来間葉細胞の増殖と遊走を刺激して関節軟骨の再生修復に対して促進的に作用することを明らかにした。さらに、副甲状腺ホルモン受容体シグナルの活性化が関節軟骨の再生誘導に阻害的に作用すること、副甲状腺ホルモン受容体を発現する増殖性の間葉系細胞が軟骨欠損部位に集積することが関節軟骨の再生修復に不可欠であることなどを明らかにした。これら増殖分化因子とその応答性の解析から骨髄幹細胞システムの活性化による軟骨再生の基盤技術を開発している。

The proper growth and differentiation signaling from the surrounding extracellular environment regulates tissue formation and its functions. We are aiming at the elucidation of molecular interactions and signaling networks underlying mesenchymal vascularization or cartilage, bone and tendon/ligament formation. Our current research efforts are focused on the following studies.

1. Functional analysis of Chondromodulin-I

We have previously purified and cloned Chondromodulin-I (ChM-I) as an angiogenesis inhibitor from fetal bovine cartilage based on the growth inhibitory activity of vascular endothelial cells (ECs). ChM-I is expressed in the avascular zones of cartilaginous molds and cardiac valves. Recently, we have demonstrated that the aged mice lacking ChM-I exhibit abnormal angiogenesis in cardiac valves, suggesting the essential role of ChM-I in maintaining the tissue avascularity. Despite these several evidences showing the activity of ChM-I *in vivo* and *in vitro*, the molecular mechanism of the ChM-I action remains to be elucidated. To address this issue, we have examined the effect of recombinant human ChM-I on EC migration, an early regulatory step in angiogenesis. ChM-I inhibited the VEGF- or FGF-2-induced migration of ECs in a dose-dependent manner, and these effects were EC-specific. Furthermore, ChM-I disturbed VEGF-induced reorganization of actin cytoskeleton and focal adhesions in ECs, leading to the reduced cell motility. Recent data suggested that cell adhesion or VEGF signaling was not the direct target of ChM-I, supporting the idea that ChM-I acts through a unique signal pathway that alters the EC motility. We are now trying to identify the molecule interacting with ChM-I on ECs.

2. Regulation of cell growth and differentiation by BmCPV polyhedra microcrystals that occlude a growth factor

Aiming at the application in regenerative medicine, we are developing a novel tool to regulate growth or differentiation of tissue or stem cells at a particular position of the organ/tissue. Previously, we established a protein expres-

sion system that enables us to immobilize foreign proteins on insect virus occlusion bodies of protein crystals, termed polyhedra. As polyhedra of cytoplasmic polyhedrosis virus are quite stable in the intra- and extra-cellular environments and are virtually insoluble at physiological pH, virions remain viable for very long periods as far as they are occluded in polyhedra. Viral infection occurs by the release of the virus particles at high pH in the insect intestine after digestion. The polyhedra we used are not only insoluble in the extracellular milieu but also quite unique in their shape among protein crystals, which is cubic of several microns in size. Taking advantage of an immobilization signal in the viral protein, we attempted here to immobilize human fibroblast growth factor-2 (FGF-2) into the polyhedra: We fused the virion outer capsid protein VP3 of the *Bombix mori* cytoplasmic polyhedrosis virus to the human FGF-2 at either the N or C terminus for the production of polyhedra containing immobilized FGF-2. Purified FGF-2 polyhedra stimulated proliferation and phosphorylation of p44/p42 mitogen-activated protein kinase in cultured fibroblasts. Moreover, cellular responses were blocked by a synthetic inhibitor of the FGF signaling pathway, SU5402, suggesting that FGF-2 polyhedra indeed act through FGF receptors. Furthermore, the growth stimulatory activity of FGF-2 polyhedra retained even in a desiccated form and very stable. Thus, we expect that the biologically active polyhedra microcrystals will be a versatile source of extracellular signals in the micron size range and facilitate the future analysis of cellular and tissue dynamics during the directed migration and induction of cellular polarity at the single cell level.

3. Identification of tendon and ligament specific enhancer

Tendon and ligament are dense connective tissue composed of type I collagen rich extra cellular matrix secreted by fibroblasts. The role of tendon and ligaments are to connect skeletal elements with muscle or bone with bone enduring by mechanical force. They play important roles as locomotive organs, but little is known about the molecular basis of tendogenesis or ligamentogenesis due to a lack of specific differentiation marker molecules. We cloned *TeM* (*tenomodulin*) as a *ChM-I* related gene and found that *TeM* mRNA is predominantly expressed in fibroblasts of tendon and ligaments. To understand the molecular mechanisms of differentiation of tendon or ligament fibroblasts, we are currently analyzing the transcriptional regulation for the mouse *TeM* gene by using transgenic mice and cultured tenocytes. We examined the genomic region of the mouse *TeM* (from -11 kb to +11.6 kb) gene and found two genomic fragments that can drive tendon or ligament specific expression in mouse embryos.

4. Regenerative repair of articular cartilage

In contrast to bone, articular cartilage has a very limited capacity for repair. Cartilaginous lesion easily causes osteoarthritis. Therefore articular cartilage has been a target tissue in regenerative medicine. Full-thickness defects that penetrate articular cartilage undergo repair processes that result in the generation of either fibrous tissue or hyaline cartilage depending on the defect size. Undifferentiated mesenchymal cells participate in these repair processes. Taking advantage of this tissue-repair system as a model, we are studying the regulation of growth and differentiation of chondrogenic cells *in vivo*: Fibroblast growth factor-2 effectively stimulates both the mobilization and migration of replicating mesenchymal cells, thus functioning in support of a chondrogenic repair response. We demonstrated that parathyroid hormone (PTH)/PTH related-protein (PTHrP) signaling was inhibitory on the induction of chondrogenic repair of articular cartilage. The accumulation of PTH/PTHrP receptor-positive proliferating mesenchymal cells in the defect cavities critically correlated with the subsequent induction of cartilage regeneration, which can be a prognostic

marker of repair.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Kondo S., Shukunami C., Morioka Y., Matsumoto N., Takahashi R., Oh J., Atsumi T., Umezawa A., Kudo A., Kitayama H., Hiraki Y., Noda M. : Dual effects of the membrane-anchored MMP regulator RECK on chondrogenic differentiation of ATDC5 cells. *J. Cell Sci.* **120** : 849-857 (2007)
- Hosokawa Y., Kaji T., Shukunami C., Hiraki Y., Kotani E., Mori H., Masuhara H. : In situ Micro-patterning of Proteinous Occlusion Bodies in Water by Femtosecond Laser-Induced Mechanical Force. *Biomedical Microdevices*, **9** : 105-11 (2007)
- Yasukuni R., Spitz JA., Meallet-Renault R., Negishi T., TADA T., Hosokawa Y., Asahi T., Shukunami C., Hiraki Y., Masuhara H. : Realignment Process of Actin Stress Fibers in Single Living Cells Studied by Focused Femtosecond Laser Irradiation. *Appl. Surface Sci.* **253** : 6416-6419 (2007)
- Ishii I., Mizuta H., Sei A., Hirose J., Kudo S., Hiraki Y. : Regeneration of Full-thickness Defects of Articular Cartilage in Rabbit Using FGF-2 and a Fibrin Sealant. *J. Bone Joint Surg. Br.* **89-B** : 693-700 (2007)
- Mori H*, Shukunami C*, Furuyama A., Notsu H., Nishizaki Y., Hiraki Y. : The immobilization of bioactive FGF-2 into cubic proteinous micro-crystals (Bombyx mori cypovirus polyhedra) that are insoluble in a physiological cellular environment. *J. Biol. Chem.* **282** : 17289-17296 (2007) (*These authors contributed equally to this work)
- Kaji T., Ito S., Miyasaka H., Hosokawa Y., Masuhara H., Shukunami C., Hiraki Y. : Non-destructive micro-patterning of living animal cells using focused femtosecond laser-induced impulsive force. *Applied Physics Lett.* **91** : 023904-1/-3 (2007)
- Kusafuka K., Watanabe H., Kimata K., Hiraki Y., Shukunami C., Kameya T. : Minute pleomorphic adenoma of the sub-mandibular gland in the patients with oral malignancy : a report of two cases with histological and immunohistochemical examination. *Histopathology* **51** : 258-61 (2007)
- Nemoto Y., Inohaya K., Hiraki Y., Kudo A. : Expression of marker genes during otolith development in medaka. *Gene Expression Patterns* (in press)
- Anraku Y., Mizuta H., Kudo S., Nakamura E., Takagi K., Hiraki Y. : The chondrogenic repair response of undifferentiated mesenchymal cells in rat full-thickness articular cartilage defects. *Osteoarthritis Cartilage* (in press)
- Shukunami C., Takimoto A., Miura S., Nishizaki Y., Hiraki Y. : Chondromodulin-I and Tenomodulin are differentially expressed in the avascular mesenchyme during mouse and chick development. *Cell and Tissue Research* (in press)

2) 著 書

- Masuhara H., Hosokawa Y., Yoshikawa H. Y., Nakamura K., Sora Y., Mori Y., Jiang Y. Q., Oh I., Kaji T., Mori H., Hiraki Y., Yamaguchi A., Asashi T. : "Nano Biophotonics -Science and Technology-" Femtosecond Nonlinear Processing in Solution : From Crystallization to Manipulation and Patterning. *Handai Nanophotonics Vol. 3* (ed. Masu-

- hara H., Kawata S., Tokunaga F. ; Elsevier) 227-243 (2007)
- Hosokawa Y., Yasukuni R., Spitz J. -A., Tada T., Negishi T., Shukunami C., Hiraki Y., Asahi T., Meallet-Renault R., Masuhara H. : “Nano Biophotonics -Science and Technology-” Single living cell processing in water medium using focused femtosecond laser-induced shockwave and cavitation bubble. Handai Nanophotonics Vol. 3 (ed. Masuhara H., Kawata S., Tokunaga F. ; Elsevier) 245-254 (2007)
- Mori H., Hosokawa Y., Masuhara H., Shukunami C., Hiraki Y. : “Nano Biophotonics -Science and Technology-” Immobilization of protein molecules into insect viral occlusion body and its application. Handai Nanophotonics Vol. 3 (ed. Masuhara H., Kawata S., Tokunaga F. ; Elsevier) 325-331 (2007)
- 開 祐司 : 再生の医学・生物学の時代 (The Coming Age of Regenerative Medicine and Biology). 『人間・科学・宗教 ORC 研究叢書 3 「宗教者と科学者の対話」 媒介する「新しい哲学」を求めて』 (龍谷大学人間・科学・宗教 ORC 武田龍精編, 文部科学省オープン・リサーチ・センター整備事業, 法蔵館) 207-234 (2007)

3) 総 説

- Shukunami C., Hiraki Y. : Chondromodulin-I and Tenomodulin : the Negative Control of Angiogenesis in Connective Tissue. Curr. Pharm. Design **13** : 2101-2112 (2007)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

- 細川陽一郎、井口世利也、朝日 剛、開 祐司、増原 宏 : 集光フェムト秒レーザーによる単一動物細胞へのプラスミド導入. 日本化学会第 87 春季年会 (2007.3.25-28. 大阪)
- 近藤俊哉、伊東良太、開 祐司 : 前駆軟骨細胞株 ATDC5 を用いた生理活性リゾリン脂質 LPA および S1P の作用解析. 第 39 回日本結合組織学会学術大会—第 54 回マトリックス研究会合同学術集会 (2007.5.9-11. 東京)
- Miura S., Shukunami C., Nishizaki Y., Hiraki Y. : A potential role of decidual chondromodulin-I in the control of cell migration and invasion of trophoblast giant cells. The 21st Century COE Symposium for Integration of Transplantation Therapy and Regenerative Medicine (2007.6.29-30. 京都)
- 三浦重徳、宿南知佐、開 祐司 : Chondromodulin-I の血管内皮細胞に対する遊走阻害活性. 第 8 回運動器科学研究会 (2007.8.24-25. 徳島)
- 滝本 晶、開 祐司、宿南知佐 : VEGF-A による軟骨性骨原基への血管侵入制御機構. 第 8 回運動器科学研究会 (2007.8.24-25. 徳島)
- Miura S. : Inhibition of migration of vascular endothelial cells by chondromodulin-I in a cell-type specific manner. Joint Forum (2007.9.5-6. 神戸)
- Miura S., Kondo J., Shukunami C., Mitsui K., Hiraki Y. : Chondromodulin-I inhibits migration of vascular endothelial cells in a cell-type specific manner. 再生医療に関する京都大学再生医科学研究所 国際シンポジウム (International Symposium on Regenerative Medical Therapy, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University) (2007.9.19-20. 京都)
- Takimoto A., Nishizaki Y., Hiraki Y., Shukunami C. : Regulation of the dual angiogenic switching in endochondral bone formation. 再生医療に関する京都大学再生医科学研究所 国際シンポジウム (International Symposium

on Regenerative Medical Therapy, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University) (2007.9.19-20. 京都)

Yamaguchi A., Hosokawa Y., Louit G., Asahi T., Masuhara H.: Nanoparticles Injection into Single Animal Cells by Femtosecond Laser-induced Impulsive Force. The 9th annual Conference on Laser Ablation (COLA) (2007.9.24-28. Tenerife, Spain)

2) 講演・シンポジウム

開 祐司：軟骨と骨の形成と発育・間葉における組織血管化の制御と組織形成. 九州大学歯学部口腔発達学特別講義 (2007.6.7. 福岡)

伯野大彦、木村成卓、岡田保典、四津良平、小川 聡、開 祐司、福田恵一：血管新生抑制因子コンドロモジュリン I は正常弁に発現し弁の機能維持に働く. 第 28 回日本炎症・再生医学会ワークショップ 1「炎症反応を制御する血管新生の分子機構」(2007.8.2-3. 東京)

開 祐司：再生医学と Modern Biology について考える. 第 2 回バイオフィotonics 技術研究会特別講演 (2007.8.17. 神戸)

開 祐司：関節軟骨の変性と修復. 第 4 回六甲カンファレンスセッション 3「変形性関節症」(2007.9.1-2. 神戸)

開 祐司：「血管新生バランススイッチ」の分子細胞生物学. 兵庫県立大学大学院生命理学研究科セミナー (2007.9.27. 兵庫)

宿南知佐：軟骨性骨原基における血管侵入抵抗性の制御. 第 13 回成人病の病因・病態の解明に関する研究会 (2007.7.1. 軽井沢)

宿南知佐：軟骨性骨原基への血管侵入制御. 第 25 回日本骨代謝学会学術集会ミニシンポジウム 3「血管新生と骨軟骨代謝」(2007.7.19. 大阪)

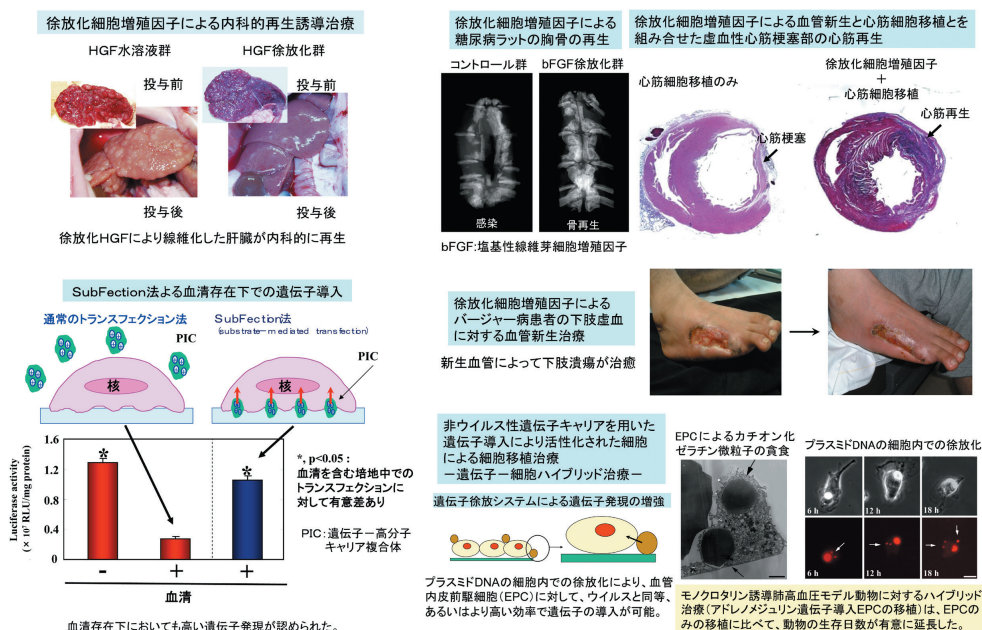
生体材料学分野 Department of Biomaterials

分野主任 教授 田畑 泰彦

Prof. Yasuhiko Tabata

【研究概要】

本研究分野の目的は、医療に应用可能あるいは基礎生物医学研究に役立つ方法、手段、および技術を材料科学の立場に立って研究開発していくことである。生体材料とは、体の中で使用したり、あるいはタンパク質、細胞などの生体成分と直接に接触する状況で用いられる材料のことであり、本研究分野においては、高分子、金属、セラミックス、およびそれらのコンポジットからなる生体材料のデザインと創製を行い、得られた生体材料の基礎生物医学および医療への応用を目指している。具体的には、生体組織・臓器の再生誘導治療(一般には、再生医療と呼ばれている)および再建外科治療に用いられる医用材料、人工臓器のための生体材料、あるいは薬物・遺伝子治療、予



防ワクチン、および診断効率の向上を目指したドラッグデリバリーシステム(DDS)のための生体材料の研究開発を行っている。加えて、幹細胞の分子生物学、生化学、細胞生物学の研究、および細胞培養のために必要不可欠な生体材料についての研究開発も進めている。

再建外科治療をアシストする生体材料の生体適合性はまだまだ低く、その代行できる生物機能も単一であることから、临床上、患者に高い Quality of Life (QOL) を与えることが困難である場合が多い。また、臓器移植もドナー不足に加えて、免疫拒絶抑制剤の副作用にともなう問題もある。このように、再建外科と臓器移植との現在の2大先端外科治療に限界が見えてきている状況の中で生まれてきたのが、細胞を活用、生体本来のもつ生体組織の再生誘導能力を基盤として病気を治療しようという試みである。この再生誘導治療の試みが医療応用できるようになれば、再建外科と臓器移植治療に続く第3の治療法となることは疑いない。この再生誘導治療は生体材料に依存しない点、免疫抑制剤を必要としない点で、前述の2大治療法とは大きく異なる。再生誘導治療の目的は、細胞を利用した生体組織の再生誘導と臓器機能の代替による病気の治療である。この実現には、再生現象にかかわる増殖・分化ポテンシャルの高い(幹)細胞とその周辺環境の基礎生物医学研究が必要であることはいうまでもないが、それに加えて、細胞の増殖、分化を促し、生体組織の再生を誘導するための環境(場)を与えることが不可欠である。別な言い方をすれば、再生誘導治療とは、細胞やその周辺環境をうまく設定することによって、本来、体のもっている自然治癒力を高めて、病気の治療を行うという、体にやさしい理想的な治療法である。この生体組織(Tissue)の再生誘導の場を構築するための医工学(Engineering)的な技術・方法論が生体組織工学(Tissue Engineering)である。

生体組織工学の基本アイデアは、生体組織の構成成分である細胞、細胞の増殖・分化のための足場、および生体シグナル因子(細胞増殖因子と遺伝子)をうまく組み合わせていくことによって、生体組織の再生誘導を実現することである。このためには生体材料の利用が必要不可欠であり、特に、生体内で分解吸収され消失する材料(生体吸収性材料)と3つの要素とを組み合わせ、生体組織の再生を誘導する。この再生誘導に適切な生体吸収性を金属やセラミックスにもたせることは難しく、この観点から、生体組織工学では主として高分子材料が利用されている。生体吸収性材料の利点は、材料の生体内での役割が果たされた後にその場から消失するため、再び取り除く必要がなく、また、材料が吸収されるために、材料が生体組織・臓器の再生過程を妨げないことである。生体材料が生体組織の再生修復とともに吸収されれば、材料に対する問題となる生体反応の心配もなく、また、細胞を患者自身か

ら採取することができれば、免疫拒絶反応もなく、理想的な治療法となる。DDS(ドラッグデリバリーシステム、薬物送達法)および生物医学研究のための材料にも生体吸収性が要求される場合が多い。

本研究分野では、生体吸収性の高分子材料を中心とした生体組織・臓器の再生誘導治療のための生体材料、薬物、遺伝子治療、予防、診断、などに必要な DDS のための生体材料、分子生物学、生化学、細胞生物学、細胞培養、および幹細胞研究のための生体材料、あるいは外科および内科治療補助のための生体材料の研究を行っている。以下にその内容をより詳しく述べる。

1) 生体組織の再生誘導治療のための生体材料

血液細胞以外のほとんどの細胞は、生体内では細胞外マトリックスと呼ばれる増殖・分化のための足場材料に接着して存在、その生物機能を発現している。そのため、生体組織が大きく欠損した場合には、この足場も失われるため、欠損部に細胞のみを補うだけでは生体組織の再生誘導を望めない場合が多い。そこで、再生誘導を期待する部位に細胞の増殖・分化を促すための仮の足場を与える必要がある。本研究分野では、この細胞の足場としての3次元あるいは多孔質構造をもつ生体吸収性の成形体(人工細胞外マトリックス)をデザイン、創製している。しかしながら、いかに足場が優れていても、細胞の数が少なかったり、細胞を増殖させるための生体シグナル因子が足りなければ、生体組織の再生誘導は望めないであろう。このような場合、細胞の増殖・分化を促す細胞増殖因子あるいはその関連遺伝子を用いるのが1つの現実的な解決法である。しかしながら、これらの生体シグナル因子は生体内での寿命が短く不安定であるため、その利用には投与上の工夫が必要である。この工夫が DDS である。たとえば、生体吸収性材料に細胞増殖因子あるいはその関連遺伝子を包含させ、再生部位で徐々に放出(徐放)する。この徐放化技術によって、生体シグナル因子の生物活性が効率よく発揮され、その結果として、種々の生体組織・臓器の再生誘導が促進されることがわかってきている。現在、この細胞増殖因子の徐放化技術を利用した血管、骨、歯周組織などの再生誘導治療の臨床研究が始まっている。本研究分野では、この徐放化担体のための生体材料をデザイン、創製している。一般に、拡張型心筋症、慢性腎炎、肝硬変、肺線維症など慢性疾患では、病的部位が線維性組織で占められ、臓器機能が不全に陥っていることが多い。そこで、内科的な薬物、遺伝子治療によって、この線維性組織を消化分解することができれば、周辺の正常組織の再生誘導能によって病的部位は再生修復され、慢性線維性疾患の内科的な再生誘導治療が実現できる。本研究分野では、このアイデアを基に病的部位への薬物・遺伝子のターゲティングおよび局所徐放化による難治性慢性線維性疾患に対する内科的再生誘導治療を行っている。この治療概念は、生体のもつ再生誘導能力を活用するという点で、上記の足場、DDS 技術を用いた外科的再生誘導治療と同じである。

2) 幹細胞工学および基礎生物医学研究のための生体材料

再生誘導治療には、2つのアプローチがある。1つは前述の生体組織工学をベースとした生体組織の再生誘導治療である。もう1つが、増殖・分化ポテンシャルの高い幹細胞を利用する細胞移植治療である。後者のためには、臨床応用可能な十分な数と質のそろった細胞を調製することが重要となる。本研究分野では、この細胞移植治療に不可欠である幹細胞、前駆細胞、および芽細胞などを効率よく得ることを目的として、それらの細胞の単離、増殖、分化のための培養基材および培養技術について研究開発を行っている。従来の細胞培養法に加えて、種々の生体材料からなる培養基材あるいは培養装置(バイオリアクタ)の組み合わせによる細胞培養技術の確立を目指している。これらの一連の研究は、単に再生誘導治療のために利用可能な細胞を得ることを目的としているだけでなく、広く、細胞の増殖・分化、形態形成に関する生物医学の基礎研究にも応用できる生体材料、技術、方法論を提供する

ことも大きな目的である。加えて、細胞機能の解析および細胞の遺伝子改変を目的として、遺伝子導入、発現のための非ウィルスカリヤーの研究開発も行っている。幹細胞を利用した細胞移植治療では、時として、細胞の再生誘導能力不足が問題となる場合がある。これを解決する1つの方法として、遺伝子導入による幹細胞の活性化(遺伝子による機能改変)が有望であり、広く行われている。これまでに、ウィルスベクターを用いた遺伝子導入が行われているが、ウィルスを用いていることから、その臨床応用はきわめて難しい。そこで、非ウィルスカリヤーを用いた幹細胞の生物機能の活性化法の研究開発が強く望まれている。この1つの成果として、遺伝子を幹細胞内で徐放化する技術を開発した。この技術を利用することによって、ウィルスと同程度あるいはそれよりも高いレベルの遺伝子発現が実現できた。さらに、遺伝子により活性化した幹細胞を用いることによって、より高い細胞移植治療効果が認められることがわかった。また、遺伝子と非ウィルスカリヤーとが固定化された基材上で細胞を培養、さらにバイオリアクタを組み合わせることによって、細胞への遺伝子導入発現効率を高める(SubFection: substrate-mediated transfection)技術も開発している。これらの一連の物質導入技術は、細胞の生物機能の改変に有用であり、その対象となる物質は遺伝子だけでなく、small interfering RNA(siRNA)などの核酸物質、低分子、ペプチド、タンパク質などの細胞内導入法としても利用可能である。

3) DDS のための生体材料

薬物が効くのは、薬物がその作用部位に適切に作用するからである。しかしながら、現実には、薬物は部位選択性がなく、その薬理作用を発現させるために大量投与が行われている。これが薬物の副作用の主な原因となっている。そこで、薬物を必要な部位へ、必要な濃度で、必要な時期にだけ働かせるための試みが行われている。これがDDSである。DDSの目的は、薬物の徐放化、薬物の長寿命化、薬物の吸収促進、および薬物のターゲティングなどである。いずれの目的にも、薬物を修飾するための生体材料が必要である。本研究分野では、生体材料学の観点からの治療薬物と治療遺伝子のためのDDS研究を行っている。これまでの研究の経緯から、DDSの対象薬物は治療薬であった。しかしながら、DDSとは生物活性をもつ物質を全て薬物と考え、それと生体材料とを組み合わせることで、薬物の生物活性を高めることを目的とした技術・方法論である。つまり、DDSの対象物は、治療薬だけではなく、予防薬、診断薬、化粧品成分、ヘルスケア物質などである。このような観点から、われわれはDDSを考え、そのための材料、技術、方法論についての研究開発を進めている。例えば、全身あるいは局所粘膜ワクチン薬、および核磁気共鳴イメージング(MRI)、超音波診断薬などに対して、DDS技術を適用すれば、予防ワクチンおよび診断効果は高まる。また、化粧品、ヘルスケア成分へのDDS技術の適用は、それらの生物効果を高めることができる。このように、DDSとは、生物活性をもつ全ての物質に適用でき、普遍的な技術である。その適用によって、物質の生物作用を高めることができる薬物の可溶化、安定化、およびターゲティングなどのDDS技術、方法論についても研究を進めている。

4) 外科・内科治療アシストのための生体材料

本研究分野は、高分子、金属、セラミックス、およびそれらの複合材料を医療に応用していくという、本研究所の前身である生体医療工学研究センターの材料科学研究の流れを引いている。その中で、生体内で吸収する性質をもつ高分子材料を中心として、外科・内科治療の補助のための生体材料の研究開発を行っている。

上記の研究内容について、材料科学的な観点から、基礎および応用研究を行っている。得られた研究成果を基に、様々な生体組織、臓器(皮膚、骨、心臓冠動脈、脂肪、軟骨、神経、歯周組織、毛髪、心筋、腎臓など)の再生誘導のメカニズムの解明、その臨床応用、あるいはDDS技術、方法論を用いた薬物治療、予防、診断などについて、

医学部，歯学部，獣医学部，企業との共同研究を通じた，応用研究を展開している。加えて，得られた材料や技術の生物医学の基礎研究への応用についても共同研究を通して検討を進めている。

The main objective of our department is to investigate and develop methods, procedures, and technologies which are applicable to basic and clinical medicines as well as basic research of biology and medicine from the viewpoint of material sciences. The materials to use in the body and to contact biological substances, like proteins and cells, are defined as biomedical materials and biomaterials. In our department, various types of biodegradable and non-biodegradable biomaterials of polymers metals, ceramics, and their composites, are designed and created aiming at their clinical applications as well as the development of experimental tools necessary for basic researches of medicine and biology which scientifically support clinical medicine. We are investigating biomaterials to assist reconstructive surgery and to apply to drug delivery systems (DDS) for the biomaterials-based improvement of therapeutic efficacy. However, it is often difficult for patients to improve their Quality of Life (QOL) only by the therapeutic procedure of reconstructive surgery because the biomaterials applied are of poor biocompatibility and functional substitution. For organ transplantation, there are several problems to be resolved, such as the lack of donor tissue and organ or the adverse effects of immunosuppressive agents. The two advanced medical therapies currently available are clinically limited in terms of the therapeutic procedure and potential. In these circumstances, a new therapeutic trial, in which disease healing can be achieved based on the natural healing potential of patients themselves, has been explored. This is termed the therapy of regenerative medicine, where the regeneration of tissues and organs is naturally induced to therapeutically treat diseases by artificially promoting the proliferation and differentiation of cells. The objective of regenerative therapy is to regenerate injured or lost tissues and substitute organ functions by making use of cells. The regenerative medical therapy is quite different from the reconstructive surgery and organ transplantation from the viewpoint that neither biomaterials and medical devices nor immunosuppressive agents are needed. The basic idea of regenerative therapy is to give cells a local environment which is suitable to promote their proliferation and differentiation, resulting in the cell-based induction of tissue and organ regeneration. It is tissue engineering that is a biomedical technology or methodology to create this environment for the natural induction of tissue regeneration. Generally, there are three factors necessary to induce tissue regeneration, such as cells, the scaffold for cell proliferation and differentiation, and biosignaling molecules of growth factors and the related gene, which are fundamentally 3 components constituting the body tissue. For successful regenerative therapy of tissue and organ, it is indispensable to efficiently combine various biomaterials with all the body components. Among biomaterials, biodegradable biomaterials play an important role in this medical applications. Since there are few metals and ceramics with biodegradable nature, polymer materials of biodegradability have been mainly used for this purpose. If a biomaterial is degraded to disappear in the body, it is not always necessary to retrieve the material from the body after the function expected is accomplished. In addition, the material should be degraded at the right time profile not to allow to physically impair the natural process of tissue regeneration by the material remaining. Thus, biodegradable biomaterials are indispensable for the research and development (R&D) of regenerative medical therapy, DDS or basic biology and medicine.

Our research goal is to design and create biomaterials mainly from polymers which are practically applicable for regenerative medical therapy, stem cell technology, DDS, and medical therapy of reconstructive surgery and internal medicine. More detailed explanation about every project is described.

1) Biomaterials for the Therapy of Regenerative Medicine

It is well recognized that cells are present in the living tissue interacting with the extracellular matrix (ECM) of natural scaffold for the proliferation and differentiation of cells or their morphogenesis. When the body tissue is largely lost, the ECM itself also disappears. In such a case, only by supplying cells to the defect, we cannot always expect the tissue regeneration at the large defect. One of the possible ways to achieve successful tissue regeneration is to provide a temporary scaffold for the proliferation and differentiation of cells to the defect. We are designing and creating 3-dimensional and porous constructs of biodegradability as this temporary cell scaffold which is an artificial ECM. However, even if a superior scaffold is supplied to the tissue defect, the tissue regeneration will not be achieved without the number of cells and the amount of biosignaling molecules large enough for cell proliferation. It is one of the practically possible ways to make use of growth factors for promoted proliferation and differentiation of cells. It is, however, necessary for in vivo use of growth factors to contrive their administration form because of the in vivo short half-life and instability. One possible way to break through the problem is to use the controlled release of growth factor or the related gene at the tissue site to be regenerated over an extended time period by incorporating the factor or gene into an appropriate carrier. This release technology enables the growth factor to efficiently exert the biological activity, resulting in promoted tissue regeneration. We are designing and preparing the biodegradable carrier of growth factors and genes from gelatin and its derivatives. A new therapy to naturally induce tissue and organ regeneration by the controlled release of various biologically active growth factors has been achieved and scientifically demonstrated through animal experiments. Among the tissue regeneration trials, clinical experiments of angiogenic and bone regeneration therapies have been started by the controlled release technology of basic fibroblast growth factor(bFGF) and the good therapeutic efficacy is demonstrated.

Generally, in the chronic fibrotic disease, such as dilated cardiomyopathy, liver cirrhosis, lung fibrosis, and chronic nephritis, the damaged portion of organ is often occupied with the fibrous tissue, which often causes organ dysfunction. It is highly possible that if the fibrosis is enzymatically digested by a proper way, the fibrotic site is naturally regenerated and repaired on the basis of the inherent regenerative potential of the surrounding normal tissue and consequently the organ function is regenerated and recovered. We are designing and preparing a system of drug targeting and the local release with polymers of an organ affinity to achieve the regeneration therapy for chronic disease based on the natural healing potential of patients. Based on the drug administration therapy which has been clinically used in internal medicine, this is called as physical regenerative therapy of internal medicine. This is a therapeutic approach different from the conventional regenerative therapy of surgery where cells, the scaffold, and signal molecules or the combinations are surgically applied to a tissue defect for regeneration induction thereat. The two surgical and physical regenerative therapies are conceptually identical from the viewpoint of the positive use of natural healing potential. In addition, the basic idea of regenerative therapy will be combined with internal medical therapy to open a new therapeutic field in the future. For example, the combination with aneurysm catheter therapy has been tried, and consequently the aneurysm occlusion by the regenerated tissue-based organization has been succeeded by the bFGF release system. On the other hand, a new cell culture technology is being developed to enhance the cellular expression level of nucleic acid compounds, such as decoy DNA and small interfering RNA(siRNA), with non-viral gene carriers.

2) Biomaterials for Stem Cells Technology and Basic Researches of Medicine and Biology

There are two approaches to realize regeneration medical therapy. One is the tissue engineering-based therapeutic approach described above. The other is cell transplantation therapy to induce tissue regeneration. For the latter approach, it is of prime importance to efficiently obtain and prepare cells with a high potential of proliferation and differentiation, such as stem cells, precursors, and blastic cells. In this department, the technology and methodology of cell culture with various biomaterials and bioreactors have been explored to efficiently isolate, proliferate, and differentiate stem cells, precursors, and blastic cells. A series of this study not only aims at the preparation of cells suitable for the therapy of regenerative medicine, but also research and development(R&D)of materials, technologies, and methodologies for basic medicine and biology. In addition, non-viral vectors for plasmid DNA and siRNA have been investigated to design the DDS system for gene transfection which can biologically analyze the functions of stem cells and genetically engineer cells to activate the biological functions for cell therapy. For example, we have developed a new system for the controlled release of plasmid DNA inside cells and succeeded in enhancing the level of gene transfection and the consequent gene expression as high as or higher than that of viral vector system. In addition, a new technology of cell culturing on plasmid DNA-coated substrates with or without the combination of bioreactor systems has been developed and enhanced the level of gene expression as well as prolonged the expressed period. This reverse transfection system(SubFection : substrate-mediated transfection)is effective in the gene transfection for stem and matured cells which have not been readily transfected by the conventional method while it can be applied for cell internalization of low-molecular weight compounds, peptides, proteins, and nucleic acids (siRNA and decoy DNA).

3) Biomaterials for DDS

Generally there are few drugs which have a specific selectivity for the site of action. Therefore, the high-dose administration of drugs is necessary to achieve their in vivo therapeutic efficacy, while this often causes the adverse effects of drugs. DDS is an engineering trial which allows a drug to act at the right time the right site of action at the necessary concentration. The objective of DDS includes the controlled release of drug, the prolongation of drug life-time, the acceleration of drug permeation and absorption, and the drug targeting. Various biomaterials are inevitably required to achieve every DDS objective. In this department, various research projects of DDS for drug and gene therapies are carried out from the viewpoint of polymer material sciences. Our definition of “drug” is not limited only to therapeutic substances, but it means every substance with a certain biological activity and function. The DDS technology and methodology can be also applied for preventive and diagnostic substances to enhance the in vivo efficacy of vaccination and diagnosis, such as magnetic resonance imaging(MRI),ultrasound diagnosis or molecular imaging. We are also developing DDS technology and methodology which are applicable to the research and development of cosmetics and health care sciences. DDS is defined as an universal technology and methodology to efficiently enhance the biological functions of a certain substance by the combination with biomaterials and can universally apply to any research field of which the final goal is to enhance the biological functions of substances used.

4) Biomaterials for Surgical and Physical Therapies

This department is partly originated from the division of Molecular Design and Biomaterials of the former Research Center for Biomedical Engineering where the medical applications of polymer materials have been investigated

extensively. Among the research activities, we continue to molecularly design and create biomaterials mainly from biodegradable polymers aiming at the development of assistant materials in surgical and physical therapies.

From the viewpoint of biomaterial sciences, we are actively proceeding comprehensive biological and medical researches on the scaffold for the cell proliferation and differentiation, the DDS of growth factors and the related genes, and the material-based technology or methodology to use stem, precursor, and blast cells and in addition, their medical applications. Through several R&D collaborations with medical, dental, and veterinary schools as well as private companies, we are planning to apply our basic research results to realize the regeneration induction therapy of various tissues and organs, such as the skin, fat, bone, cartilage, nerve, hair, blood vessels, periodontium, myocardium, and kidney as well as the DDS technologies for therapeutic, prophylactic, and diagnostic medicines, while some biomaterials are applicable for basic of medicine and biology as the research tools.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

田畑泰彦：周辺環境の硬さ軟らかさが幹細胞の分化を決める。バイオテクノロジージャーナル。7(1)：11-12(2007)

田畑泰彦：生体シグナル因子の活用技術ードラッグデリバリーシステム(DDS)ー再生医療技術の最前線。第2章：44-51(2007)

田畑泰彦：RNA干渉を利用した幹細胞分化の修飾。バイオテクノロジージャーナル。7(2)：144-145(2007)

田畑泰彦。からだ自身のもつ再生誘導力で難治性慢性線維性疾患を制すー内科的再生誘導治療ー。バイオテクノロジージャーナル。7(3)：271-272(2007)

田畑泰彦，劉健，山本雅哉：がん光線力学療法のための水溶性高分子修飾フラーレンの合成。日本化学繊維研究所公演集。第64集：61-69(2007)

田畑泰彦，西村一郎。サイエンスの贈り物：①還元はビジネスの基本。補綴臨床。40(1)：15-20(2007)

田畑泰彦：先端再生医療を支える生体吸収性材料，DDS，細胞培養技術。わが国の保健医療の将来。第8章：279-287(2007)

田畑泰彦：ES細胞の血管分化を促す高分子ハイドロゲル。バイオテクノロジージャーナル。7(4)：396-397(2007)

田畑泰彦：次世代細胞移植のための遺伝子と細胞とのハイブリッド。バイオテクノロジージャーナル。7(5)：527-528(2007)

田畑泰彦：先端医療を支えるバイオマテリアルの最前線と今後の方向性。産婦人科基本問題研究会第七回学術講演。特別講演記録：3-12(2007)

田畑泰彦：体内での移植細胞の動きを可視化する分子イメージング。バイオテクノロジージャーナル。7(6)：644-645(2007)

田畑泰彦：再生医療の実用化に向けて。New Drug Discovery。24：1-2(2007)

Y. Tabata. : A New Concept of Biomaterials to Induce Tissue Regeneration. Materials Science Forum. 561-565 : 1467-1470(2007)

Y. Tabata, K. Takano, T. Ito, M. Iinuma, T. Yoshimoto, H. Miura, Y. Kitao, S. Ogawa, O. Hori. : Vaticanol B, a resveratrol tetramer, regulates endoplasmic reticulum stress and inflammation. Am J Physiol Cell Physiol. 293(1) : C

411-418(2007)

山本雅哉, 田畑泰彦: DDS を用いた内科的再生医療, 遺伝子-細胞ハイブリッド治療-再生医療, **6(1)**: 45-50 (2007)

M. Yamamoto, K. Yanase and Y. Tabata.: Fabrication of three dimensional cell scaffolds with spatial gradients of bio-molecules. *Inflammation and Regeneration*. **27(2)**: 102-106(2007)

H. Ueda, M. C. Hacker, A. Haesslein,, S. Jo, D.M. Ammon, R.N. Borazjani, J.F. Kunzler, J.C. Salamone, and A.G. Mikos.: Injectable, in situ forming poly(propylene fumarate)-based ocular drug delivery systems. *Journal for Biomedical Materials Research Part A*. **83(3)**: 656-66(2007)

A. Hokugo, Y. Sawada, R. Hokugo, H. Iwamura, M. Kobuchi, T. Kambara, S. Morita and Y. Tabata.: Controlled release of platelet growth factors enhances bone regeneration at rabbit calvaria. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. **104(1)**: 44-48(2007)

DK. Thakor, I. Spigelman, Y. Tabata, I. Nishimura.: Subcutaneous Peripheral Injection of Cationized Gelatin/DNA Polyplexes As a Platform for Non-viral Gene Transfer to Sensory Neurons. *Mol Ther*. **15(12)**: 2124-2131 (2007)

DK. Thakor. Possibility of neural engineering for neural repair. *Anesthesia Progress*. **54(2)**: 71-95(2007)

Jl. Jo, N. Nagaya, Y. Miyahara, M. Kataoka, M. Harada-shiba, K. Kangawa, and Y. Tabata. Transplantation of genetically Engineered Mesenchymal Stem Cells Improves Cardiac Function in Rats with Myocardial Infarction: Benefit of a Novel Nonviral Vector, Cationized Dextran. *Tissue Engineering*. **13(2)**: 313-322(2007)

Jl. Jo, T. Ikai, A. Okazaki, M. Yamamoto, Y. Hirano, Y. Tabata.: Expression profile of plasmid DNA by spermine derivatives of pullulan with different extents of spermine introduced. *J Control Release*. **118(3)**: 389-398(2007)

Jl. Jo, T. Ikai, A. Okazaki, K. Nagane, M. Yamamoto, Y. Hirano and Y. Tabata.: Expression profile of plasmid DNA obtained using spermine derivatives of pullulan with different molecular weights. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*. **18(7)**: 883-899(2007)

城潤一郎, 三島史人, 武田真一, 山本雅哉, 村垣善浩, 伊関洋, 佐保典英, 窪田純, 佐々木明, 西嶋茂宏, 田畑泰彦: 深部治療に対応したナノ磁性体を応用した次世代 DDS 型治療システム. *Drug Delivery System*. 558-568(2007)

J. Liu, S. Ohta, A. Sonoda, M. Yamada, M. Yamamoto, N. Nitta, K. Murata, Y. Tabata.: Preparation of PEG-conjugated fullerene containing Gd3+ ions for photodynamic therapy. *J Control Release*. **117(1)**: 104-110(2007)

T. Takamoto, Y. Hiraoka and Y. Tabata.: Enhanced proliferation and osteogenic differentiation of rat mesenchymal stem cells in collagen sponge reinforced with different poly(ethylene terephthalate)fibers. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*. **18(7)**: 865-881(2007)

T. Takamoto, K. Yasuda, T. Tsujino, S. Sugihara, S. Kanaoka, S. Aoshima and Y. Tabata.: Cell attachment to pet films coated with a thermo-sensitive block co-polymer with different chemical composition. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*. **18(9)**: 1211-1222(2007)

A. Okazaki, Jl. Jo, Y. Tabata.: A Reverse Transfection Technology to Genetically Engineer Adult Stem Cells. *Tissue Engineering*. **13(2)**: 245-251(2007)

T. Okasora, J. Jo, and Y. Tabata.: Augmented anti-tumor therapy through natural targetability of macrophages genetically engineered by NK4 plasmid DNA. *Gene Therapy*. (in press)

- M. Imamura, A. Kanmatsu, S. Yamamoto, Y. Kimura, I. Kanatani, N. Ito, Y. Tabata, O. Ogawa. : Basic fibroblast growth factor modulates proliferation and collagen expression in urinary bladder smooth muscle cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* **293** (4) : F1007-17 (2007)
- I. Kanatani, A. Kanematsu, Y. Inatsugu, M. Imamura, H. Negoro, N. Ito, S. Yamamoto, Y. Tabata, Y. Ikada, O. Ogawa. : Fabrication of an Optimal Urethral Graft Using Collagen-Sponge Tubes Reinforced with Copoly (L-Lactide/ ϵ -silon-Caprolactone) Fabric. *Tissue Engineering.* **13** (12) : 2933-40 (2007)
- C. Tangsadthakun, S. Kanokpanont, N. Sanchavanakit, R. Pichyangkura, T. Banaprasert, Y. Tabata, S. Damronsakkul. : The influence of molecular weight of chitosan on the physical and biological properties of collagen/chitosan scaffolds. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn.* **18** (2) : 147-163 (2007)
- T. Nakano, T. Ishimoto, Y. Umakoshi, and Y. Tabata. : Variation in bone quality during regenerative process. *Materials Science Forum Vols.* **539-543** : 675-680 (2007)
- 中野貴由, 馬越佑吉, 田畑泰彦: 生体アパタイトの結晶配向性に基づく骨再生過程の解明と組織再生誘導のための生体材料設計. *金属.* **77** (2) : 173-179 (2007)
- T. Ishimoto, T. Nakano, Y. Umakoshi, M. Yamamoto, and Y. Tabata. : Change in Material and Structural Parameters of Bone Mechanical Function during Long-Bone Regeneration. *Materials Science Forum.* **561-565** : 1451-1454 (2007)
- J.W. Lee, T. Nakano, S. Toyosawa, Y. Tabata, and Y. Umakoshi. : Areal Distribution of Preferential Alignment of Biological Apatite (BAP) Crystallite on Cross-section of Center of Femoral Diaphysis in Osteopetrotic (op/op) Mouse. *Materials Transactions.* **48** (3) : 1-6 (2007)
- J. W. Lee, T. Nakano, S. Toyosawa, Y. Tabata, Y. Umakoshi. : Evaluation Of BAP Orientation Using Mouse Models For Osteoporosis (OPG-KO) And Osteopetrosis (op/op). *Advanced Materials Research.* **26-28** : 761-764 (2007)
- H. Y. Yeung, K. M. Lee, L. Qin, Y. M. Chiu, C. W. Chan, R. Churk-lun Yip, P. P. Ham Chow, X. Guo, Y. Tabata, and J. Chun-yiu Cheng. : Synergistic Effect of VEGF and BMP4 Incorporated Hydrogel on Bone Formation in Non-decorticated Posterior Spinal Fusion. (in press)
- 米田正始, 田畑泰彦: bFGF 徐放と細胞移植による新しい血管再生療法. *Heart View.* **11** (13) : 118-125 (2007)
- X. Lin, M. Fujita, N. Kanemitsu, Y. Kimura, K. Tambara, G. U. Premaratne, A. Nagasawa, T. Ikeda, Y. Tabata, M. Komeda. : Sustained-Release Erythropoietin Ameliorates Cardiac Function in Infarcted Rat-Heart Without Inducing Polycythemia. *Circulation Journal.* **71** (1) : 132-137 (2007)
- Y. Arai, M. Fujita, A. Marui, K. Hirose, H. Sakaguchi, T. Ikeda, Y. Tabata, M. Komeda. : Combined treatment with sustained-release basic fibroblast growth factor and heparin enhances neovascularization in hypercholesterolemic mouse hindlimb ischemia. *Circulation Journal.* **71** (3) : 412-417 (2007)
- A. Marui, Y. Tabata, S. Kojima, M. Yamamoto, K. Tambara, T. Nishina, Y. Saji, K. Inui, T. Hashida, S. Yokoyama, R. Onodera, T. Ikeda, M. Fukushima, M. Komeda. : A novel approach to therapeutic angiogenesis for patients with critical limb ischemia by sustained release of basic fibroblast growth factor using biodegradable gelatin hydrogel : an initial report of the phase I-IIa study. *Circulation Journal.* **71** (8) : 1181-1186 (2007)
- J. Esaki, A. Marui, Y. Tabata, M. Komeda. : Controlled release systems of angiogenic growth factors for cardiovascular diseases. *Expert Opin Drug Deliv.* **4** (6) : 635-649 (2007)
- K. Hirose, A. Marui, Y. Arai, T. Nomura, K. Kaneda, Y. Kimura, T. Ikeda, M. Fujita, M. Mitsuyama, Y. Tabata, M.

- Komeda. : A novel approach to reduce catheter-related infection using sustained-release basic fibroblast growth factor for tissue regeneration in mice. *Heart Vessels*. **22** (4) : 261-267 (2007)
- K. Doi, T. Ikeda, A. Marui, T. Kushibiki, Y. Arai, K. Hirose, Y. Soga, A. Iwakura, K. Ueyama, K. Yamahara, H. Itoh, K. Nishimura, Y. Tabata, M. Komeda. : Enhanced angiogenesis by gelatin hydrogels incorporating basic fibroblast growth factor in rabbit model of hind limb ischemia. *Heart Vessels*. **22** (2) : 104-108 (2007)
- H. Hosseinkhani, M. Hosseinkhani, F. Tian, H. Kobayashi, Y. Tabata. : Bone Regeneration on a Collagen Sponge Self-Assembled Peptide-Amphiphile Nanofiber Hybrid Scaffold. *Tissue Engineering*. **13** (1) : 11-19 (2007)
- M. Nagae, T. Ikeda, Y. Mikami, H. Hase, H. Ozawa, K. Matsuda, H. Sakamoto, Y. Tabata, M. Kawata, T. Kubo. : Intervertebral Disc Regeneration Using Platelet-Rich Plasma and Biodegradable Gelatin Hydrogel Microspheres. *Tissue Engineering*. **13** (1) : 147-157 (2007)
- 長江将輝, 池田 巧, 澤村和秀, 三上靖夫, 田畑泰彦, 久保俊一 : 多血小板血漿と Drug Delivery System を用いた椎間板再生法の検討. *日整会誌*. **81** : S1011 (2007)
- M. Nagae, T. Ikeda, Y. Mikami, K. Sawamura, H. Hase, H. Ozawa, Y. Tabata, M. Kawata, T. Kubo. : The effect of biodegradable gelatin hydrogel microspheres on the intervertebral disc regeneration using platelet-rich plasma. *Transactions of Orthopaedic Research Society*, **32** : 1082 (2007)
- Y. Takahashi, M. Yamamoto, K. Yamada, O. Kawakami, and Y. Tabata. : Skull bone regeneration in nonhuman primates by controlled release of bone morphogenetic protein-2 from a biodegradable hydrogel. *Tissue Engineering*. **13** (2) : 293-300 (2007)
- 望月祐一, 朝村真一, 草田朗子, 森廣政, 松永吉真, 山本雅哉, 田畑泰彦, 磯貝典孝 : BMP-2 含浸ゼラチンハイドロゲルシートを用いた骨再生—イヌ眼窩床骨折モデルへの応用—再生医療. **6** (1) : 20-26 (2007)
- S. Kawatsu, K. Oda, Y. Saiki, Y. Tabata, and K. Tabayashi. : External Application of Rapamycin-eluting Film at Anastomotic Sites Inhibit Neointimal Hyperplasia in a Canine Model. *Ann Thorac Surg*. **84** (2) : 560-567 (2007)
- T. Ohno, S. Hirano, S. Kanemaru, M. Yamashita, H. Umeda, A. Suehiro, Y. Tamura, Y. Tabata, T. Nakamura, and . Ito. : Drug Delivery System of Hepatocyte Growth Factor for the Treatment of Vocal Fold Scarring in a Canine Model. **116** (10) : 762-769 (2007)
- K. Hori, C. Sotozono, J. Hamuro, K. Yamasaki, Y. Kimura, M. Ozeki, Y. Tabata, S. Kinoshita. : Controlled-release of epidermal growth factor from cationized gelatin hydrogel enhances corneal epithelial wound healing. *J Control Release*. **118** (2) : 169-176 (2007)
- H. Park, J.S. Temenoff, Y. Tabata, A.I. Caplan, and A.G. Mikos. : Injectable Biodegradable Hydrogel Composites for Rabbit Marrow Mesenchymal Stem Cell and Growth Factor Delivery for Cartilage Tissue Engineering. *Biomaterials*. **28** (21) : 3217-3227 (2007)
- T. A. Holland, E. W. H. Bodde, V. M. J. I. Cuijpers, L. S. Baggett, Y. Tabata, A. G. Mikos, J. A. Jansen. Degradable hydrogel scaffold for in vivo delivery of single and dual growth factors in cartilage repair. *Osteoarthritis and Cartilage*. **15** (2) : 187-197 (2007)
- K. Ishida, R. Kuroda, M. Miwa, Y. Tabata, A. Hokugo, T. Kawamoto, K. Sasaki, M. Doita and M. Kurosaka. : The Regenerative Effects of Platelet-Rich Plasma on Meniscal Cells In Vitro and Its In Vivo Application with Biodegradable Gelatin Hydrogel. *Tissue Engineering*. **13** (5) : 1103-1112 (2007)
- T. Aimoto, E. Uchida, A. Matsushita, Y. Tabata, T. Takano, M. Miyamoto, T. Tajiri. : Controlled release of basic fibro-

- blast growth factor promotes healing of the pancreaticojejunal anastomosis : A novel approach toward zero pancreatic fistula. *Surgery*. **142**(5) : 734-40(2007)
- K. Hyoudou, M. Nishikawa, M. Ikemura, Y. Kobayashi, A. Mendelsohn, N. Miyazaki, Y. Tabata, F. Yamashita, M. Hashida. Cationized catalase-loaded hydrogel for growth inhibition of peritoneally disseminated tumor cells. *J. Controlled Release*. **122** : 151-158(2007)
- J. Nakayama, H. Fujioka, I. Nagura, T. Kokubu, T. Makino, R. Kuroda, Y. Tabata, M. Kurosawa. : The effect of fibroblast growth factor-2 on autologous osteochondral transplantation. *International orthopaedics*. (in press)
- N. Kikuchi, C. Kitamura, T. Morotomi, Y. Inuyama, H. Ishimatsu, Y. Tabata, T. Nishihara, M. Terashita. : Formation of dentin-like particles in dentin defects above exposed pulp by controlled release of fibroblast growth factor 2 from gelatin hydrogels. *J. Endod*. **33**(10) : 1198-202(2007)
- M. Kusanagi, O. Matsui, J. Sanada, T. Ogi, S. Takamatsu, H. Zhong, Y. Kimura, and Y. Tabata. : Hydrogel-Mediated Release of Basic Fibroblast Growth Factor From a Stent-Graft Accelerates Biological Fixation With the Aortic Wall in a Porcine Model. *J Endovascular Therapy*. **14**(6) : 785-793(2007)
- E. Tamura, H. Fukuda, Y. Tabata. : Adipose tissue formation in response to basic fibroblast growth factor. *Acta Otolaryngol*. **4** : 1-5(2007)
- E. Tamura, H. Fukuda, Y. Tabata, M. Nishimura. : Use of the buccal fat pad for vocal cord augmentation. *Acta Otolaryngol*. **14** : 1-5(2007)
- N. Nitta, A. Seko, A. Sonoda, S. Ohta, T. Tanaka, M. Takahashi, K. Murata, S. Takemura, T. Sakamoto, Y. Tabata. : Is the Use of Fullerene in Photodynamic Therapy Effective for Atherosclerosis? *Cardiovasc Intervent Radiol*. (in press)
- N. Nitta, S. Ohta, T. Tanaka, R. Takazakura, Y. Nagatani, N. Kono, A. Sonoda, A. Seko, A. Furukawa, M. Takahashi, K. Murata, Y. Tabat,. : Gelatin microspheres : initial clinical experience for the transcatheter arterial embolization. *Eur J Radiol*. (in press)
- S. Ohta, N. Nitta, M. Takahashi, K. Murata, Y. Tabata. : Degradable gelatin microspheres as an embolic agent : an experimental study in a rabbit renal model. *Korean J Radiol*. **8**(5) : 418-28(2007)
- S. Ohta, N. Nitta, A. Sonoda, A. Seko, T. Tanaka, R. Takazakura, A. Furukawa, M. Takahashi, T. Sakamoto, Y. Tabata, K. Murata. : Embolization Materials Made of Gelatin : Comparison Between Gelpart and Gelatin Microspheres. *Cardiovasc Intervent Radiol*. (in press)
- Lu, PL. Lai JY, Y. Tabata, Hsiue GH. : A methodology based on the “anterior chamber of rabbit eyes” model for noninvasively determining the biocompatibility of biomaterials in an immune privileged site. *J Biomed Mater Respart A*. (in press)
- K. Takano, Y. Kitao, Y. Tabata, H. Miura, K. Sato, K. Takuma, K. Yamada, S. Hibino, T. Choshi, M. Iinuma, H. Suzuki, R. Murakami, M. Yamada, S. Ogawa, O. Hori. : A dibenzoylmethane derivative protects dopaminergic neurons against both oxidative stress and endoplasmic reticulum stress. *Am J Physiol Cell Physiol*. **293**(6) : C1884-94(2007)
- K. Okunishi, M. Dohi, K. Fujio, K. Nakagome, Y. Tabata, T. Okasora, M. Seki, M. Shibuya, M. Imamura, H. Harada, R. Tanaka, and K. Yamamoto. : Hepatocyte growth factor significantly suppresses collagen-induced arthritis in mice. *J Immunol*. **179** : 5504-5513(2007)

- 成田 淳, 高原政利, 伊藤和生, 古川孝志, 浅野多聞, 松本宏史, 荻野利彦, 福島重宣, 木村祐, 田畑泰彦: 線維芽細胞増殖因子徐放化ナイロン糸が半月板細胞に与える効果—器官培養での検討—. 膝. **32**: (2007) (in press)
- Y. Tsuji-Saso, T. Kawazoe, N. Morimoto, Y. Tabata, T. Taira, K. Tomihata, A. Utani, S. Suzuki.: Incorporation of basic fibroblast growth factor into preconfluent cultured skin substitute to accelerate neovascularisation and skin reconstruction after transplantation. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* **18**: 1-8(2007)
- N. Misaki, Y. Yamamoto, T. Okamoto, SS. Chang, H. Igai, M. Gotoh, Y. Tabata, H. Yokomise.: Intra-thoracic fibrous tissue induction by polylactic acid and epsilon-caprolactone copolymer cubes, with or without slow release of basic fibroblast growth factor. *Eur J Cardiothorac Surg.* **32**(5): 761-765(2007)
- P. Wongpanit, Y. Tabata, R. Rujiravanit.: Miscibility and biodegradability of silk fibroin/carboxymethyl chitin blend films. *Macromol Biosci.* **6**; **7**(12): 1258-1271(2007)
- K.Y. Lee, T. Nakagawa, T. Okano, R. Hori, K. Ono, Y. Tabata, SH. Lee, J. Ito.: Novel therapy for hearing loss: delivery of insulin-like growth factor 1 to the cochlea using gelatin hydrogel. *Otol Neurotol.* **28**(7): 976-81(2007)
- K. Hayashi, T. Kubo, K. Doi, Y. Tabata, Y. Akagawa.: Development of new drug delivery system for implant bone augmentation using a basic fibroblast growth factor-gelatin hydrogel complex. *Dent Mater J.* **26**(2): 170-177(2007)
- H. Igai, Y. Yamamoto, SS. Chang, M. Yamamoto, Y. Tabata, H. Yokomise.: Tracheal cartilage regeneration by slow release of basic fibroblast growth factor from a gelatin sponge. *J Thorac Cardiovasc Surg.* **134**(1): 170-175(2007)
- S. Haneda, K. Fukushima, Y. Funayama, C. Shibata, K. Takahashi, Y. Tabata, I. Sasaki.: A new drug delivery system targeting ileal epithelial cells induced electrogenic sodium absorption: possible promotion of intestinal adaptation. *J Gastrointest Surg.* **11**(5): 568-577(2007)
- T. Seki, H. Kanbayashi, S. Chono, Y. Tabata, K. Morimoto.: Effects of a sperminated gelatin on the nasal absorption of insulin. *Int J Pharm.* **29**: 338(1-2): 213-218(2007)
- T. Haraguchi, K. Okada, Y. Tabata, Y. Maniwa, Y. Hayashi, Y. Okita.: Controlled release of basic fibroblast growth factor from gelatin hydrogel sheet improves structural and physiological properties of vein graft in rat. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **27**(3): 548-555(2007)
- N. Fukuyama, E. Tanaka, Y. Tabata, H. Fujikura, M. Hagihara, H. Sakamoto, K. Ando, H. Nakazawa, H. Mori.: Intravenous injection of phagocytes transfected ex vivo with FGF4 DNA/biodegradable gelatin complex promotes angiogenesis in a rat myocardial ischemia/reperfusion injury model. *Basic Res Cardiol.* **102**(3): 209-216(2007)
- M. Murata, T. Akazawa, T. Sasaki, K. Ito, J. Tazaki, M. Yamamoto, Y. Tabata and M. Arisue.: Blood Permeability of a Novel Ceramic Scaffold for BMP-2. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* **81**(2): 469-475(2007)
- M. Nakamura, J. Jo, Y. Tabata and O. Ishikawa.: Controlled delivery of T-box 21 siRNA ameliorates autoimmune alopecia (alopecia areata) in C3H/HeJ mouse model. *American Journal of Pathology.* (in press)
- H. Egusa, K. Iida, M. Kobayashi, Y. Lin, D. Zuk, CC. Wang, DK. Thakor, M. M. Hedrick, I. Nishimura. Downregulation of Extracellular Matrix-Related Gene Clusters during Osteogenic Differentiation of Bone Marrow- and Adipose Tissue-Derived Stromal Cells. *Tissue Engineering*, **13**(10): 2589-600(2007)

2) 著 書

- Y. Tabata : Nanoparticles for pharmaceutical applications. 「American Scientific Publishers」(2007)
- 田畑泰彦, 岡野光夫編集 : 「ティッシュエンジニアリング 2007」(株式会社日本医学館, 東京)(2007)
- 田畑泰彦 : 「絵で見てわかるナノ DDS マテリアルから見た治療・診断・予後・予防, ヘルスケア技術の最先端, 遺伝子医学 MOOK 別冊」(田畑泰彦編集, 株式会社メディカルドゥ, 大阪)(2007)
- 佐治英郎, 田畑泰彦 : 「ますます広がる分子イメージング技術」(佐治英郎, 田畑泰彦編集, 株式会社メディカルドゥ, 大阪)(2007)

3) 総 説

- 田畑泰彦 : 組織工学をベースとした再生医療の最前線—バイオマテリアル(生体材料)からみた再生誘導治療—治療—THE JOURNAL OF THERAPY—, **89**(3) : 597-609(2007)
- 田畑泰彦 : 生体材料工学を活用したドラッグデリバリーシステム(DDS)と先端医療, 材料の科学と工学, **44**(1) : 16-20(2007)
- 田畑泰彦 : 先端医療を支える機能性薬物キャリアの開発, 薬学雑誌, **127**(5) : 825-837(2007)
- 田畑泰彦 : 再生誘導能力をもつ新世代型バイオマテリアル, まてりあ(Materia Japan), **46**(7) : 1-5(2007)
- 田畑泰彦 : 再生医療を支えるバイオマテリアル—生体組織の再生誘導修復を実現する医用材料と DDS 技術—, 化学工業, **58**(6) : 45-50(2007)
- 田畑泰彦 : ドラッグデリバリーシステム(DDS)と組織工学, 人工臓器, **36**(1) : 108-109(2007)
- 田畑泰彦 : 再生誘導治療(再生医療)を実現しつつける DDS, PHARM TECH JAPAN, **23**(9) : 133-140(2007)
- 田畑泰彦 : 再生誘導バイオマテリアルと創傷治癒, 臨床外科, **62**(12) : 1497-1506(2007)
- 田畑泰彦 : 生体組織工学と再生誘導治療 —再生医療の原点にせまる—, 生体の科学, **58**(6) : 101-107(2007)
- T. Kushibiki, and Y. Tabata. : Gelatin-Based Nanomicelles. Nanoparticles for pharmaceutical Applications, Chapter 22, 377-384(2007)
- 山本雅哉, 田畑泰彦 : 徐放化細胞増殖因子による骨再生誘導, THE BONE, **21**(4) : 39-44(2007)
- 山本雅哉, 田畑泰彦 : ティッシュエンジニアリングと内科的再生誘導治療, ティッシュエンジニアリング 2007 第2章ティッシュエンジニアリング材料, 技術, 方法論の進歩, 153-159(2007)
- 上田寛樹 : タンパク質を用いたナノ DDS, 絵で見てわかるナノ DDS—マテリアルから見た治療・診断・予後・予防, ヘルスケア技術の最先端遺伝子医学 MOOK 別冊 : 45-55(2007)
- Y. Kimura, Y. Tabata. : Experimental tissue regeneration by DDS technology of bio-signaling molecules. Journal of Dermatological Science, **47**(3) : 189-199(2007)
- 城潤一郎, 田畑泰彦 : 天然高分子 多糖, 絵で見てわかるナノ DDS—マテリアルから見た治療・診断・予後・予防, ヘルスケア技術の最先端遺伝子医学 MOOK 別冊 : 56-62(2007)
- J. Jo, and Y. Tabata. ; Non-viral gene transfection technologies for genetic engineering of stem cells. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, (in press)
- 城潤一郎, 三島史人, 武田真一, 山本雅哉, 村垣善浩, 伊関洋, 佐保典英, 窪田純, 佐々木明, 西嶋茂宏, 田畑泰彦 : 深部治療に対応したナノ磁性体を応用した次世代 DDS 型治療システム, Drug Delivery System, **22**(5) : 558-68(2007)
- J. Jo, and Y. Tabata. : Gene delivery system based on cationized polysaccharide carriers. Chapter 10, Soft Nanomateri-

als Edited by Hari Singh Nalwa, (in press)

今村正明, 小川 修, 田畑泰彦: 泌尿器科領域の再生誘導治療の進歩. 「泌尿器科疾患の New Strategy」(村井 勝, 奥山明彦, 内藤誠二編集, メジカルビュー社, 東京)2-9(2007)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

M. Yamamoto, M. Takegoshi, N. Hayashi, and Y. Tabata.: Fabrication of 3-dimensional cell scaffold with a spatial gradient of basic fibroblast growth factor. 2007 Annual Fall Meeting of the Biomedical Engineering Society. (2007.9.26-29, Los Angeles)

上田寛樹, 田畑泰彦: 熱脱水架橋コラーゲンスポンジとトランスフォーミング増殖因子 $\beta 1$ との相互作用. 「21 世紀 COE プログラム「融合的移植再生治療を目指す国際拠点形成」平成 19 年度国際シンポジウム」ポスター発表(2007.6.29-30, 京都)

H. Ueda, and Y. Tabata.: In Vitro Evaluation of TGF- β 1 Interaction with Collagen Sponges Dehydrothermally Crosslinked. The 9th. US-Japan Symposium on Drug Delivery System(2007.12.16-20, Hawaii)

DK. Thakor.: Science education in the United States. JSPS Science Dialogue Series(2007.1, Fukui)

DK. Thakor, Y. Tabata.: Retrograde sensory neuron gene transfer by subcutaneous injection of negatively charged pullulan-spermine/DNA polyion complexes. Japan Society for Gene Therapy Annual Meeting(2007.6.30, Nagoya)

DK. Thakor.: Maximizing the Japanese research experience. JSPS orientation for new foreign postdoctoral fellows (2007.7, Tokyo)

DK. Thakor.: Possibility of gene therapy for neuropathic pain in implant dentistry. Clinical Implant Society of Japan meeting(2007.10, Tokyo)

DK. Thakor, Y. Tabata.: Negatively charged pullulan-spermine/DNA nanoparticles for in vitro and in vivo gene delivery to sensory neurons. Society for Neuroscience Annual Meeting(2007.11, San Diego)

DK. Thakor, Y. Tabata.: Negatively charged pullulan-spermine/DNA nanoparticles for in vitro and in vivo gene delivery to sensory neurons. Tissue Engineering and Regenerative Medicine International Society Asia-Pacific chapter meeting(2007.12.3-5, Tokyo)

DK. Thakor.: Neuropathic pain and gene therapy of the peripheral nervous system. JSPS Science Dialogue Series (2007.12, Iwata)

DK.Thakor, Y. Tabata.: Nontoxic genetic engineering of adult stem cells with negatively charged pullulan-spermine/DNA nanoparticles. The 9th US-Japan Symposium on Drug Delivery Systems(2007.12.16-20, Maui)

林 雪: Controlled-release of MMP-1 Plasmid DNA Enhances Therapeutic Efficacy of Skeletal Myoblasts Transplantation in Chronic Myocardial Infarction. 「第 28 回日本炎症・再生医学会 シンポジウム 5・炎症・再生における ECM の役割」(2007.8.3, 東京)

木村 祐, 林 直樹, 宮崎伸彦, 大鶴 聡, 玉井克人, 金田安史, 田畑泰彦: 骨形成因子の徐放による骨組織再生誘導における骨髄由来細胞の役割. 第 56 回高分子学会年次大会(2007.5.29-31, 京都)

Y. Kimura, W. Tsuji, T. Inamoto, Y. Tabata.: Regeneration Induction of Adipose Tissue by Scaffold with Different

Compositions. 21st CENTURY COE SYMPOSIUM Integration of Transplantation Therapy and Regenerative Medicine (2007.6.29-30, Kyoto)

木村 祐, 辻 和香子, 稲本 俊, 田畑泰彦: 種々の生体内吸収性材料を用いた脂肪組織の再生誘導. 「第 36 回医用高分子シンポジウム」(2007.7.30-31, 東京)

木村 祐, 林 直樹, 宮崎伸彦, 大鶴 聡, 玉井克人, 金田安史, 田畑泰彦: 骨形成因子の徐放によって再生誘導された骨組織における骨髄由来細胞の役割. 第 28 回日本炎症・再生医学会 (2007.8.2-3, 東京)

Y. Kimura, N. Miyazaki, N. Hayashi, S. Otsuru, K. Tamai, Y. Kaneda, Y. Tabata.: Contribution of bone marrow-derived mesenchymal cells to bone regeneration induced by bone morphogenic protein-2 released from gelatin hydrogels. International Symposium on Regenerative Medical Therapy (Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University) (2007.9.19-20, Kyoto)

Y. Kimura, N. Miyazaki, N. Hayashi, S. Otsuru, K. Tamai, Y. Kaneda, Y. Tabata.: Contribution of bone marrow-derived mesenchymal cells to bone regeneration induced by bone morphogenic protein-2 released from gelatin hydrogels. Biomedical Engineering Society 2007 Annual Fall Meeting (2007.9.26-29, Los Angeles)

木村 祐, 林 直樹, 野一尚子, 宇山 浩, 田畑泰彦: 種々の弾性率をもつ基材上でのヒト脂肪前駆細胞の培養. 第 10 回日本組織工学会 (2007.11.8-9, 東京)

木村 祐, 辻和香子, 稲本 俊, 田畑泰彦: I 型コラーゲンと生体物質の混合材料上でのヒト脂肪前駆細胞の増殖と分化. 第 29 回日本バイオマテリアル学会大会 (2007.11.26-27, 大阪)

Y. Kimura, N. Miyazaki, N. Hayashi, S. Otsuru, K. Tamai, Y. Kaneda, Y. Tabata.: Contribution of bone marrow-derived mesenchymal cells to bone regeneration induced by bone morphogenetic protein-2 release. Tissue Engineering and Regenerative Medicine Society Asia-Pacific Chapter Meeting 2007 (2007.12.3-5, Tokyo)

Y. Kimura, Y. Tabata.: Controlled release of stromal cell derived factor (SDF)-1 to enhance the angiogenesis activity. 1st Asian Biomaterial Congress (1stABMC) (2007.12.6-8, Tsukuba)

城潤一郎, 田畑泰彦: 抗がん剤担持磁気応答性ゼラチンハイドロゲル粒子の作製. 第 56 回高分子学会年次大会 (2007.5.29-31, 京都)

城潤一郎, 田畑泰彦: 抗がん剤徐放能と磁気被誘導能を有する酸化鉄-ゼラチンナノ粒子の作製. 第 23 回日本 DDS 学会 (2007.6.14-15, 熊本)

城潤一郎, 折口智哉, 平野義明, 田畑泰彦: 腫瘍イメージング効率増強のための酸化鉄ナノ粒子と 5-アミノレブリン酸との複合体化. 第 2 回日本分子イメージング学会 (2007.6.28-29, 福井)

J. Jo, and Y. Tabata.: Preparation of iron oxide nanoparticles with different sizes and surface potentials for cell labeling. 34th Annual meeting and exposition of the Controlled Release Society (2007.7.7-11 California)

城潤一郎, 田畑泰彦: 骨髄間葉系幹細胞ラベリング効率に与える酸化鉄ナノ粒子のサイズと表面電位の影響. 第 28 回日本炎症・再生医学会 (2007.8.2-3, 東京)

J. Jo, and Y. Tabata.: Preparation of iron oxide nanoparticles with different sizes and surface potentials for MRI labeling of stem cells. Institute Frontier Medical Sciences International Symposium 2007 (2007.9.19-20, Kyoto)

城潤一郎, 田畑泰彦: 再生医療と DDS. 「第 69 回日本血液学会・第 49 回日本臨床血液学会合同総会・合同シンポジウム 1 疾患治療を目的とした DDS 最近の進歩」(2007.10.11-13, 横浜)

城潤一郎, 田畑泰彦: 酸化鉄ナノ粒子の物理化学的性質に着目した幹細胞ラベリング方法の開発. 第 10 回日本組織工学会 (2007.11.8-9, 東京)

城潤一郎, 田畑泰彦: 磁気応答性と薬物担持能を同時に有する酸化鉄-ゼラチンナノ粒子の作製. 第29回日本バイオマテリアル学会(2007.11.26-27. 大阪)

J. Jo, I. Aoki, and Y. Tabata.: Preparation of magnetic resonance imaging contrast agent for angiogenic therapy. Tissue Engineering International and Regenerative Medicine Society Asia-Pacific Chapter Meeting 2007 (2007.12.3-5. Tokyo)

J. Jo, A. Okazaki, T. Okasora, M. Yoshida, and Y. Tabata.: A Subsection Technology to Genetically Engineer Stem Cells 1st Asia Biomaterial Congress(2007.12.6-8. Tsukuba)

J. Jo, and Y. Tabata.: Development of iron oxide nanoparticles with different sizes and surface potentials for MRI labeling of stem cells The 9th US-Japan Symposium on Drug Delivery System(2007.12.16-20. Maui)

劉 健, 山本雅哉, 田畑泰彦: 光線力学がん治療のためのプルラン修飾フラーレンの作製. 第56回高分子年次大会(2007.5.29-31. 京都)

劉 健, 河合裕子, 山本雅哉, 青木伊知男, 田畑泰彦: 骨のイメージングのためのMRI造影剤の作製. 第10回日本組織工学会(2007.11.8-9. 東京)

劉 健, 山本雅哉, 田畑泰彦: 骨の核磁気共鳴映像のための造影剤の作製. 第29回日本バイオマテリアル学会(2007.11.26-27. 大阪)

小川敏弘, 高本智紹, 田畑泰彦: ゼラチンハイドロゲル粒子上での骨髄間葉系幹細胞の培養. 第56回高分子年次大会(2007.5.2-3. 京都)

小川敏弘, 夏本徹哉, 北郷明成, 高岡良平, 小俣和彦, 三輪利幸, Moon, Young Sun, 宇山 浩, 田畑泰彦: スタチン含有ポリ乳酸ナノファイバーを用いた骨組織の再生. 第10回日本組織工学会(2007.11.8-9. 東京)

小川敏弘, 高本智紹, 田畑泰彦: ゼラチンハイドロゲル粒子上および粒子間での骨髄間葉系幹細胞の培養. 第29回日本バイオマテリアル大会(2007.11.26-27. 大阪)

永根健太郎, 城潤一郎, 田畑泰彦: カチオン化デキストランを用いた in vitro small interfering RNA(siRNA)導入と遺伝子発現抑制効果. 第56回高分子学会年次大会(2007. 5.29-31. 京都)

永根健太郎, 出澤真理, 田畑泰彦: サブフェクション法を用いた骨髄由来間葉系幹細胞の神経誘導. 第10回日本組織工学会(2007.11.8-9. 東京)

永根健太郎, 城潤一郎, 田畑泰彦: カチオン化デキストランを用いた small interfering RNA による骨髄間葉系幹細胞の遺伝子発現抑制. 第29回日本バイオマテリアル学会大会(2007.11.26-27. 大阪)

林 直樹, 竹越 稔, 山本雅哉, 田畑泰彦: フィブロンエチンググラジエント固定化アルギン酸スポンジの作製. 第56回高分子年次大会(2007.5.29-31. 京都)

林 直樹, 竹越 稔, 山本雅哉, 田畑泰彦: 細胞接着性グラジエントをもつアルギン酸足場材料の作製. 第10回日本組織工学会(2007.11.8-9. 東京)

林 直樹, 竹越 稔, 山本雅哉, 田畑泰彦: 細胞接着分子グラジエント化アルギン酸足場材料に対する細胞接着挙動. 第29回日本バイオマテリアル学会大会(2007.11.26-27. 大阪)

宮崎伸彦, 城潤一郎, 田畑泰彦: 疎水基導入プルランを用いた難水溶性抗がん剤の水可溶化とその抗がん活性評価. 第29回日本バイオマテリアル学会大会(2007.11.26-27. 大阪)

吉田雅貴, 城潤一郎, 田畑泰彦: カチオン化多糖を用いた樹状細胞へのリバーストランスフェクション法. 第56回高分子年次大会(2006.5.29-31. 京都)

吉田雅貴, 城潤一郎, 田畑泰彦: スペルミン導入デキストランを用いた樹状細胞への遺伝子導入と遺伝子-細胞ハ

- イブリッド治療. 第10回日本組織工学会(2006.11.8-9, 東京)
- 吉田雅貴, 城潤一郎, 田畑泰彦: キレート残基導入ポリエチレングリコールを用いた薬の腫瘍ターゲティング. 第29回日本バイオマテリアル学会大会(2006.11.26-27, 大阪)
- 折口智哉, 城潤一郎, 平野義明, 田畑泰彦: 蛍光物質 - 酸化鉄ナノ粒子複合体による腫瘍イメージング効率の増強. 第53回高分子研究発表会(2007.7.20, 神戸)
- 折口智哉, 城潤一郎, 平野義明, 田畑泰彦: 腫瘍イメージング効率向上のための蛍光物質 - 酸化鉄ナノ粒子複合体の作製. 日本バイオマテリアル学会 第2回関西若手研究発表会(2007.8.3, 大阪)
- 折口智哉, 城潤一郎, 平野義明, 田畑泰彦: 蛍光物質 - 酸化鉄ナノ粒子複合体を用いた腫瘍イメージング効率の向上. 第29回日本バイオマテリアル学会(2007.11.26-27, 大阪)
- 高藤義正, 城潤一郎, 田畑泰彦: 生体認識能を考えたヒト抗体Fcのポリエチレングリコール(PEG)修飾. 第53回高分子研究発表会(2007.7.20, 神戸)
- 高藤義正, 城潤一郎, 田畑泰彦: 生体認識能を保持したヒト抗体Fcへのポリエチレングリコール(PEG)修飾法. 第29回日本バイオマテリアル学会大会(2007.11.26-27, 大阪)
- 谷郷智美, 上田寛樹, 田畑泰彦: 疎水基導入ゼラチン誘導体の作製および疎水性薬物の水可溶化. 第53回高分子研究発表会(2007.7.20, 神戸)
- 谷郷智美, 田畑泰彦: 疎水性ゼラチン誘導体の作製とスタチンの水可溶化. 第29回バイオマテリアル学会大会(2007.11.26-27, 大阪)
- 高岡良平, 高本智紹, 日笠嘉朗, 田畑泰彦: 不織布内での細胞の培養に与える播種細胞数と接着因子の影響. 29回日本バイオマテリアル学会大会(2007.11.26-27, 大阪)
- 今村正明, 金谷 勲, 兼松明弘, 山本新吾, 田畑泰彦, 小川 修: bFGFは膀胱閉塞時に尿路上皮より産生され, ERK経路を介して平滑筋の増殖, マトリクス産生及び収縮力を制御する. 第95回日本泌尿器科学会総会(2007.4.15, 神戸)
- 今村正明, 兼松明弘, 金谷 勲, 山本新吾, 田畑泰彦, 小川 修: 膀胱平滑筋の再生における basic Fibroblast Growth Factor(bFGF)の役割. 「第95回日本泌尿器科学会総会 ワークショップ5 泌尿器科領域の再生医療の進歩」(2007.4.15, 神戸)
- M. Imamura, A. Kanematsu, S. Yamamoto, I. Kanatani, Y. Tabata, O. Ogawa.: Basic fibroblast growth factor(bFGF) promotes bladder smooth muscle cell proliferation and matrix remodeling through ERK1/2 pathway. American Urological Association 2007 annual meeting. (2007.5.20, Anaheim)
- 今村正明, 根来宏光, 金谷 勲, 兼松明弘, 山本新吾, 田畑泰彦, 小川 修: bFGFによるERK経路を介した膀胱平滑筋におけるコラーゲン発現の調節. 第4回泌尿器科再生再建研究会(2007.6.16, 高松)
- 今村正明, 根来宏光, 金谷 勲, 兼松明弘, 山本新吾, 小川 修, 田畑泰彦: bFGFによるERK経路を介した膀胱平滑筋におけるコラーゲン発現の調節. 第28回日本炎症・再生医学会(2007.8.3, 東京)
- 今村正明, 根来宏光, 金谷 勲, 兼松明弘, 山本新吾, 小川 修, 田畑泰彦: ゼラチンハイドロゲルを用いたbFGFによる膀胱コラーゲン発現の検討. 第29回日本バイオマテリアル学会(2007.11.27, 大阪)
- 根来宏光, 金谷 勲, 兼松明弘, 今村正明, 稲継泰之, 山本新吾, 田畑泰彦, 筏 義人, 小川 修: 生体吸収性人工材料による尿道再生. 第4回泌尿器科再生再建研究会(2007.6.16, 高松)
- Y. Kimura, A. Hokugo, T. Takamoto, H. Kurosawa, and Y. Tabata.: Regeneration of anterior cruciate ligament by bio-degradable scaffold combined with local controlled release of basic fibroblast growth factor and collagen wrap-

- ping. (2007.9.19-20. Kyoto)
- 木村雄太, 北郷明成, 高本智紹, 黒澤 尚, 田畑泰彦: 徐放化 bFGF と collagen 膜を組み合わせた前十字靱帯の再生修復. 第 28 回日本炎症・再生学会大会(2007.8.2-3. 東京)
- 木村雄太, 北郷明成, 高本智紹, 黒澤 尚, 田畑泰彦: 徐放化 bFGF と collagen 膜を組み合わせた前十字靱帯の再生修復. 第 10 回日本組織工学会大会(2007.11.8-9. 東京)
- 木村雄太, 北郷明成, 高本智紹, 黒澤 尚, 田畑泰彦: 徐放化 bFGF と collagen 膜を組み合わせた前十字靱帯の再生修復. 第 29 回日本バイオマテリアル学会大会(2007.11.26-27. 大阪)
- 木村雄太, 北郷明成, 高本智紹, 田畑泰彦, 黒澤尚: 徐放化 bFGF と collagen 膜を組み合わせた前十字靱帯の再生修復. 「第 22 回日本整形外科学会基礎学術集会パネルディスカッション」(2007.10.25-26. 浜松)
- 山村省吾, 田畑泰彦: グルタルアルデヒド架橋ゼラチンによる腹腔内癒着抑制. 第 10 回日本組織工学会(2007.11.8-9. 東京)
- N. Nishishita, Y. Morimoto, M. Oka, Y. Tabata, Y. Hirano, “Self-assembly peptide for Tissue Engineering Scaffold” 7th International Symposium on Biomimetic Materials Processing. (2007.1.24. Nagoya)
- 西下直希, 平野義明, 宮澤光博, 川口拓也, 岡 勝仁, 田畑泰彦: ペプチドファイバーを利用した人工細胞外マトリックスの構築. 第 56 回高分子討論会(2007.9.19-21. 名古屋)
- 西下直希, 城潤一郎, 山本雅哉, 田畑泰彦, 平野義明: 遺伝子治療のための細胞接着性ペプチドを用いた遺伝子導入. 第 44 回ペプチド討論会(2007.11.7-9. 富山)
- 西下直希, 森本佳孝, 田畑泰彦, 平野義明: ペプチドを用いた機能性足場材料の設計. 第 29 回日本バイオマテリアル学会大会(2007.11.26-27. 大阪)
- 石本卓也, 中野貴由, 馬越佑吉, 山本雅哉, 田畑泰彦: 家兎再生骨の力学機能における材質・構造パラメータの寄与解明. 日本金属学会 2007 年春期(第 140 回)大会(2007.3.27-29. 千葉)
- 李 志旭, 中野貴由, 馬越佑吉, 豊澤 悟, 田畑泰彦: 硬組織疾患モデルを用いた力学機能への影響因子の解析. 日本金属学会 2007 年春期(第 140 回)大会(2007.3.27-29. 千葉)
- J. W. Lee, T. Nakano, Y. Umakoshi, S. Toyosawa, and Y. Tabata.: Evaluation of bone quality using osteopetrotic mouse; Spring Conference of The Korean Institute of Metals and Materials. (2007.4.26. Changwon)
- T. Ishimoto, T. Nakano, Y. Umakoshi, M. Yamamoto, and Y. Tabata.: Change in material and structural parameters of bone mechanical function during long-bone regeneration. The 6th Pacific Rim International Conference on Advanced Materials and Processing(PRICM-6) (2007.11.5-9. Jeju)
- J. W. Lee, T. Nakano, S. Toyosawa, Y. Tabata, and Y. Umakoshi.: Evaluation of BAp orientation using mouse models for osteoporosis(OPG-KO)and osteopetrosis(op/op). The 6th Pacific Rim International Conference on Advanced Materials and Processing(PRICM-6) (2007.11.5-9. Jeju)
- T. Ishimoto, T. Nakano, Y. Umakoshi, M. Yamamoto, and Y. Tabata.: Analysis of bone quality of tissue-engineered bone and its correlation to Young's modulus. 1st Asian Biomaterials Congress(1st ABMC) (2007.12.6-8. Tsukuba)
- J.W. Lee, T. Nakano, S. Toyosawa, Y. Tabata, and Y. Umakoshi.: Analysis of biological apatite(BAp) c-axis orientation as a bone quality parameter using osteopetrotic(op/op)mouse. 1st Asian Biomaterial Congress(1st ABMC) (2007.12.6-8. Tsukuba)
- 新田哲久, 大田信一, 田中豊彦, 外山哲也, 河野直明, 永谷幸裕, 高櫻竜太郎, 園田明永, 瀬古安由美, 古川 顕,

- 高橋雅士, 村田喜代史, 坂本 力, 田畑泰彦: 溶解時間可変ゼラチン粒子(GMS)の血管塞栓物質としての安全性の評価—臨床例に対する使用経験・DDSの可能性について—, 第66回日本医学放射線学会総会(2007.4.13-15, 横浜)
- 新田哲久, 瀬古安由美, 園田明永, 大田信一, 田中豊彦, 古川 顕, 高橋雅士, 村田喜代史, 竹村しづき, 坂本 力, 田畑泰彦: Vascular regeneration by the delivery of basic fibroblast growth factor in rabbit models with hind limb ischemia using IVR approach, 第36回日本IVR学会総会(2007.5.24-26, 金沢)
- 園田明永, 新田哲久, 大田信一, 瀬古安由美, 宮川善浩, 田中豊彦, 古川 顕, 高橋雅士, 坂本 力, 田畑泰彦, 村田喜代史: Vx2 肝担癌ウサギにおけるシスプラチン徐放剤としてのプルロニック F127 の検討, 第36回日本インターベンショナルラジオロジー学会総会(2007.5.24-26, 石川)
- 園田明永, 新田哲久, 大田信一, 瀬古安由美, 前田清澄, 津川拓也, 山本敦子, 高橋雅士, 田畑泰彦, 村田喜代史: MRI 下薬物動態評価手段としての造影シスプラチン製剤の開発(第一報), 第66回日本医学放射線学会総会(2007.4.13-15, 神奈川)
- 園田明永, 新田哲久, 大田信一, 瀬古安由美, 村上陽子, 高橋雅士, 村田喜代史, 森川茂廣, 城潤一郎, 田畑泰彦: MRI 下薬物動態評価手段としての造影シスプラチン製剤の開発と担癌ウサギでの評価, 第29回日本バイオマテリアル学会(2007.11.26-27, 大阪)
- 瀬古安由美, 新田哲久, 園田明永, 大田信一, 高橋雅士, 村田喜代史, 竹村しづき, 森川茂廣, 木村 祐, 田畑泰彦: 7T MRI を使用した脂肪組織再生過程の画像評価, 第66回日本医学放射線学会総会(2007.4.13-15, 横浜)
- 瀬古安由美, 新田哲久, 園田明永, 大田信一, 村田喜代史, 前田清澄, 城潤一郎, 田畑泰彦: 酸化鉄ナノ粒子を用いた組織特異的 MRI 造影剤の開発に向けた基礎検討, 第35回日本磁気共鳴学会(2007.9.27-29, 神戸)
- 瀬古安由美, 新田哲久, 木村 祐, 大田信一, 園田明永, 村田喜代史, 森川茂廣, 田畑泰彦: コラーゲンスポンジと徐放化 bFGF を用いたラット脂肪組織再生モデルの MRI 画像評価, 第29回日本バイオマテリアル学会(2007.11.26-27, 大阪)
- 丸井 晃, 仁科 健, 丹原圭一, 佐地嘉章, 山崎和裕, 阪口仁寿, 江崎二郎, 山本雅哉, 池田 義, 田畑泰彦, 米田正始: bFGF 徐放による「時間的・空間的」局所血管新生—安全・低侵襲性への新たな試み—(2007.5.23-25, 名古屋)
- 丸井 晃, 仁科 健, 丹原圭一, 佐地嘉章, 笹橋 望, 阪口仁寿, 江崎二郎, 池田 義, 田畑泰彦, 米田正始: 塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)徐放による「時間的・空間的」局所血管新生—安全・低侵襲性への新たな試み—, 第5回日本フットケア学会シンポジウム(2007.2.16-17, 神戸)
- A. Marui, K. Tambara, T. Nishina, M. Yamamoto, K. Hirose, Y. Saji, N. Sasahashi, T. Ikeda, Y. Tabata, M. Komeda.: Towards New Era for Regenerative Medicine in Cardiovascular Area, 第71回日本循環器学会プレナリーセッション(2007.3.15-17, 神戸)
- 柳 茂樹, 林 雪, 丹原圭一, 長澤 淳, 木村 祐, 田畑泰彦, 池田 義, 米田正始: ラット慢性心筋梗塞モデルに対するエリスロポイエチン局所徐放投与の有効性の検討, 臨床心血管再生研究会(2007.2.17, 京都)
- 丹原圭一, 丸井 晃, 仁科 健, 佐地嘉昭, 笹橋 望, 山本雅哉, 田畑泰彦, 小島伸介, 福島雅典, 池田 義, 米田正始: 非遺伝子・時間的・空間的局所治療を原則とする心臓血管外科領域の再生医療の臨床的試み, 第37回日本心臓血管外科学会学術総会(2007.2.23, 東京)
- K. Tambara, A. Marui, T. Nishina, Y. Saji, N. Sasahashi, M. Yamamoto, Y. Tabata, S. Kojima, M. Fukushima, T. Ikeda,

- M. Komeda. : Clinical Trials for Ischemic Hearts and Limbs Using Control-released Basic Fibroblast Growth Factor. 第 71 回日本循環器学会(2007.3.17. 神戸)
- 長澤 淳, 杉本亮大, 柳 茂樹, 上谷鉄矢, 顔 培実, 丸井 晃, 富田伸司, 田畑泰彦, 池田 義, 米田正始: 塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)の局所徐放投与は左室縮小手術(VRS)後の再 remodeling を抑制するラットモデルを用いた実験的検討一. 第 60 回日本胸部外科学会定期学術集会(2007.10.20. 仙台)
- H. Sakaguchi, K. Hirose, A. Marui, Y. Huang, S. C. Bir, J. Esaki, Y. Tabata, T. Ikeda, M Komeda : Novel approach to rescue severe pulmonary hypertension with intratracheal administration of sustained-release basic fibroblast growth factor. 第 5 回京都大学臨床心血管再生研究会(2007.3.6)
- S. C. Bir, A. Marui, K. Hirose, Y. Arai, H. Sakaguchi, J. Esaki, Y. Huang, T. Ikeda, Y. Tabata, M. Fujita, M. Komeda : Combined Therapy of Basic Fibroblast Growth Factor(bFGF) and Sarpogrelate Enhances Arteriogenesis Efficiently in Diabetic Mouse Hind limb Ischemia. 第 71 回日本循環器学会総会・学術集会(2007.3.15-17. 神戸)
- H. Sakaguchi, K. Hirose, A. Marui, Y. Arai, Y. Huang, S. C. Bir, J. Esaki, Y. Tabata, T. Ikeda, M. Komeda : Local Sustained Release of Vancomycin(VCM) may Prevent Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus(MRSA) Graft Infection. 第 71 回日本循環器学会総会・学術集会(2007.3.15-17. 神戸)
- K. Hirose, A. Marui T. Ikeda, Y. Arai, T. Kushibiki, Y. Kimura, H. Sakaguchi, Y. Tabata, M. Komeda : Single Intratracheal Administration of Micro Gelatin Hydrogel Microspheres Incorporating bFGF can Ameliorate the Survival of Monocrotaline-induced Pulmonary Hypertension Rats. 第 71 回日本循環器学会総会・学術集会(2007.3.15-17. 神戸)
- Y. Huang, A. Marui, K. Hirose, Y. Arai, H. Sakaguchi, S. C. Bir, J. Esaki, T. Ikeda, Y. Tabata, M. Komeda : Sustained Release of Prostaglandin E1 Ameliorates the Impaired Therapeutic Angiogenesis by Basic Fibroblast Growth Factor in Diabetic Murine Hindlimb Ischemia. 56th annual scientific session of American college of cardiology (2007.3.24-27. New Orleans)
- S.C. Bir, M. Fujita, A. Marui, K. Hirose, Y. Arai, H. Sakaguchi, Y. Huang, J. Esaki, T. Ikeda, Y. Tabata, M. Komeda. : Sarpogrelate Ameliorates the Therapeutic Angiogenesis by Basic Fibroblast Growth Factor in Diabetic Mouse Hind Limb Ischemia. Kyoto University 21st Century Center of Excellence Program(COE)Symposium (2007.6.1-2. 京都)
- T. Kamitani, A. Nagasawa, K. Tambara, A. Sugimoto, X. Lin, M. Yamamoto, Y. Tabata, T. Ikeda, M. Komeda : Developing a New Strategy Fusion of Cardiac Surgery And Regeneration Therapy. 第 1 回国際心筋症・心不全学会(2007.3.10. 京都)
- 成田淳, 高原政利, 伊藤和生, 古川孝志, 浅野多聞, 松本宏史, 田中賢, 荻野利彦, 福島重宣, 木村祐, 田畑泰彦: bFGF 徐放化ナイロン糸が半月板細胞に与える影響. 第 32 回日本膝関節学会(2007.6.14-16. 北海道)
- A. Narita, M. Takahara, T. Furukawa, T. Ogino, S. Fukushima, Y. Kimura, and Y. Tabata. : In vitro study on meniscal repair using biodegradable gelatin hydrogel and basic fibroblast growth factor. International Symposium in Yamagata 2007, Molecular Epidemiological Study Utilizing the Regional Characteristics(2007.9.6-7. Yamagata)
- A. Narita, M. Takahara, T. Furukawa, T. Ogino, S. Fukushima, Y. Kimura, Y. Tabata. : Meniscal repair using biodegradable gelatin hydrogel and basic fibroblast growth factor : Organ culture model. 6th Combined Meeting of the Orthopaedic Research Societies(2007.10.20-24. Honolulu)

- 成田淳, 高原政利, 古川孝志, 荻野利彦, 福島重宣, 田畑泰彦: 線維芽細胞増殖因子とゼラチンハイドロゲルを用いた半月板修復—器官培養での検討—. 第 22 回日本整形外科学会基礎学術集会(2007.10.25-26. 浜松)
- 成田淳, 高原政利, 古川孝志, 伊藤和生, 荻野利彦, 福島重宣, 木村祐, 田畑泰彦: 線維芽細胞増殖因子とゼラチンハイドロゲルを用いた半月板修復—器官培養での検討—. 第 10 回日本組織工学会(2007.11.8-9. 東京)
- 李 千萬, 北川 透, 藤井 仁, 中井 啓, 塩野裕之, 奥村明之進, 西田俊朗, 鈴木 実, 田畑泰彦, 小野公二, 松村 明, 金田安史, 澤 芳樹: 悪性胸膜中皮腫に対する DDS 製剤を用いたホウ素中性子療法(BNCT)の開発に関する基礎的検討 —. 第 107 回日本外科学会定期学術集会パネルディスカッション(2007.4.13. 大阪)
- C. Lee, Y. Kaneda, H. Fujii, T. Kitagawa, T. Nishida, K. Nakai, A. Matsumura, M. Suzuki, K. Ono, Y. Tabata, Y. Sawa. : Basic Investigation of BNCT with HVJ-envelope for liver metastasis and malignant pleural mesothelioma : 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association(2007.10.4. Yokohama)
- 武本 啓, 森本尚樹, 鈴木茂彦, 平 嗣良, 富畑賢司, 木村 祐, 田畑泰彦: コラーゲン/ゼラチンスポンジを用いた bFGF 徐放. 第 6 回日本再生医療学会総会(2007.3.13-14. 横浜)
- S. Takemoto, N. Morimoto, Y. Kimura, T. Taira, T. Kitagawa, K. Tomihata, Y. Tabata, and S. Suzuki. : Preparation of collagen/gelatin sponge scaffold for bFGF release. 2007 The Asia Pacific Burns Congress(2007.6.3-5. Seoul)
- 武本 啓, 森本尚樹, 木村 祐, 平 嗣良, 北川達哉, 富畑賢司, 田畑泰彦, 鈴木茂彦: bFGF 徐放可能なコラーゲン/ゼラチンスポンジ作製. 第 28 回日本炎症・再生医学会(2007.8.2-3. 東京)
- 武本 啓, 森本尚樹, 木村 祐, 平 嗣良, 北川達哉, 富畑賢司, 田畑泰彦, 鈴木茂彦: bFGF 徐放可能なコラーゲン/ゼラチンスポンジ. 第 16 回日本形成外科学会基礎学術集会(2007.10.11-12. 神戸)
- 武本 啓, 森本尚樹, 木村 祐, 平 嗣良, 北川達哉, 富畑賢司, 田畑泰彦, 鈴木茂彦: bFGF 徐放できるコラーゲン/ゼラチンスポンジ作製. 第 10 回日本組織工学会(2007.11.8-9. 東京)
- S. Takemoto, N. Morimoto, Y. Kimura, T. Taira, T. Kitagawa, K. Tomihata, Y. Tabata, and S. Suzuki. : Preparation of collagen/gelatin sponge scaffold for sustained release of bFGF. Tissue Engineering International & Regenerative Medicine Society Asia-Pacific Chapter Meeting 2007(2007.12.3-5. Tokyo)
- W. Tsuji, T. Inamoto, H. Yamashiro, H. Kato, T. Ueno, Y. Kimura, Y. Tabata, M. Toi. ; Adipogenesis induced by human adipose tissue-derived stromal cells for breast reconstruction. Organisation for Oncology and Translational Research 4th Annual Conference(2007.11.9-10. Kyoto)
- 菰刈勇人, 羽藤直人, 寺岡正人, 暁 清文, 木村 祐, 山本雅哉, 田畑泰彦: ゼラチンハイドロゲルを用いた bFGF による顔面神経の再生促進効果. 第 10 回日本組織工学会(2007.11.8-9. 東京)
- N. Takehara, Y. Tsutsumi, H. Ota, K. Tateishi, T. Takahashi, T. Ueyama, M. Yamagishi, H. Yaku, Y. Tabata, H. Matsubara, H. Oh. : Controlled intramyocardial-delivery of basic fibroblast growth factor combined with human cardiac stem cell transplantation in chronic myocardial infarction : A randomized controlled preclinical-trial 2007 American Heart Association Scientific Sessions(2007.11.5. Orland)
- 三輪利幸, Moon Young Sun, 宇山 浩, 高岡良平, 田畑泰彦: サイトカイン含有ナノファイバーによる血管新生. 第 56 回高分子学会年次大会(2007.5.29-31. 京都)
- 夏本徹哉, 三輪利幸, Moon Young Sun, 宇山 浩, 高岡良平, 田畑泰彦: サイトカイン含有ナノファイバーによる血管新生. 日本バイオマテリアル学会第 2 回関西若手研究発表会(2007.8.3. 大阪)
- 夏本徹哉, 宇山 浩, 田畑泰彦: 生体内吸収性ファイバーシート上での上皮細胞の増殖. 第 29 回日本バイオマテ

リアル学会大会(2007.11.26-27, 大阪)

永井浩巳, 西山耕一郎, 木村 祐, 田畑泰彦: ラットの反回神経麻痺に対する自家筋膜移植術の検討(b-FGFを浸透させたゼラチンシートを用いた試み), 第10回日本組織工学会(2007.11.8-9, 東京)

西嶋茂宏, 武田真一, 田畑泰彦, 山本雅哉, 城潤一郎, 伊関 洋, 村垣義浩, 佐々木明, 佐保典英: HTS バルク超伝導磁石を利用した MDDS の開発, 第76回2007年春季 低温工学・超伝導学会(2007.5.16-18, 千葉)

武田真一, 田畑泰彦, 山本雅哉, 城潤一郎, 伊関 洋, 村垣義浩, 佐々木明, 佐保典英: 磁場誘導薬剤配送システムの開発, 第2回日本磁気科学学会年次大会(2007.6.6-8, 大阪)

西嶋茂宏, 武田真一, 村垣義浩, 伊関洋, 田畑泰彦, 山本雅哉, 佐々木明, 窪田 純, 佐保典英: 磁気誘導ドラックデリバリーシステム(MDDS)の検討, 第77回2007年度秋季低温工学・超伝導学会(2007.11.20-22, 仙台)

佐保典英, 佐々木明, 伊関 洋, 村垣善浩, 西嶋茂宏, 武田真一, 田畑泰彦, 山本雅哉, 窪田 純, 塚本晃: 超電導バルク磁石を用いた磁気誘導ドラックデリバリーシステム(MDDS)の開発, 第77回 2007年度秋季低温工学・超伝導学会(2007.11.20-22, 仙台)

望月祐一, 草田朗子, 山本雅彦, 田畑泰彦, 磯貝典孝: マイクロフォーカス CTを用いた再生骨の骨構造解析, 第16回日本形成外科学会基礎学術集会(2007.10.11-12, 神戸)

M. Nagae, T. Ikeda, Y. Mikami, K. Sawamura, H. Hase, H. Ozawa, Y. Tabata, M. Kawata, T. Kubo.: The effect of biodegradable gelatin hydrogel microspheres on the intervertebral disc regeneration using platelet-rich plasma. 53th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society(2007.2.19-22, San Diego)

長江将輝, 池田 巧, 澤村和秀, 三上靖夫, 長谷 斉, 河田光博, 田畑泰彦, 久保俊一: 多血小板血漿を用いた椎間板再生法におけるゼラチンハイドロゲル粒子の有用性の検討, 第36回日本脊椎脊髄病学会(2007.4.26-27, 東京)

澤村和秀, 池田 巧, 長江将輝, 岡本慎一, 三上靖夫, 長谷 斉, 河田光博, 田畑泰彦, 久保俊一: Drug delivery system を用いた多血小板血漿の椎間板変性抑制効果の検討, 第28回日本炎症・再生医学会(2007.8.3, 東京)

長江将輝, 池田 巧, 澤村和秀, 三上靖夫, 田畑泰彦, 久保俊一: 多血小板血漿と Drug Delivery System を用いた椎間板再生法の検討, (パネルディスカッション)運動器の再生: 椎間板の変性と再生, 第22回日本整形外科学会基礎学術集会(2007.10.26, 浜松)

下野賢吾, 大島正充, 縄稚久美子, 完山 学, SEBALD, W., 田畑泰彦, 洲鎌和茂, 窪木拓男: 大腸菌由来・遺伝子改変 BMP-2 と塩基性ゼラチンを用いた骨補填剤の効果, 補綴歯科サマースクール 2007 鳴門(2007.8.31-9.1, 徳島)

三好みちよ, 川添 剛, 宗内 巖, 宮村 卓, 木暮鉄邦, 田畑泰彦, 筏 義人, 鈴木茂彦, 田中嘉雄: bFGF 徐放性ゼラチンシートの創傷治癒における影響, 一新しい創傷被覆材の臨床応用に向けてー, 第33回日本熱傷学会ワークショップ(2007.6.7-8, 金沢)

K. Ishida, R. Kuroda, K. Sasaki, Y. Mifune, K. Tei, T. Matsumoto, M. Miwa, Y. Tabata, and M. Kurosaka.: Bone Regeneration with Local Controlled Application of Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) in a bone defect of Rabbit Ulna. The 53th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society(2007.2.11-14, San Diego)

K. Ishida, R. Kuroda, K. Sasaki, Y. Mifune, K. Tei, M. Miwa, T. Matsumoto, Y. Tabata, and M. Kurosaka.: Bone Regeneration with Local Controlled Application of Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) in a bone defect of

- Rabbit Ulna. The 29th American Society for Bone and Mineral Research (2007.9.16-19. Honolulu)
- K. Ishida, R. Kuroda, K. Sasaki, Y. Mifune, K. Tei, N. Fujita, Y. Tabata, and M. Kurosaka. : Bone Regeneration with Local Controlled Application of Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) in a bone defect of Rabbit Ulna. The 6th Combined Meeting of Orthopaedic Research Society (2007.10.20-24. Honolulu)
- K. Sasaki, K. Ishida, R. Kuroda, S. Kubo, T. Matsumoto, K. Tei, Y. Mifune, Y. Tabata, and M. Kurosaka. : Enhancement of tendon-bone osteointegration of anterior cruciate ligament (ACL) graft using granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF). The 53th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society (2007.2.11-14. San Diego)
- K. Sasaki, R. Kuroda, K. Ishida, S. Kubo, T. Matsumoto, Y. Mifune, K. Kinoshita, K. Tei, T. Akisue, Y. Tabata, and M. Kurosaka. : Enhancement of tendon-bone osteointegration of anterior cruciate ligament (ACL) graft using granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF). The 33th Annual Meeting of American Orthopaedic Society for Sports Medicine (2007.7.12-15. Cargaly)
- 佐々木謙, 石田一成, 黒田良祐, 木下恵祐, 久保晴司, 松本知之, 鄭 克真, 美船 泰, 田畑泰彦, 黒坂昌弘: 生体吸収性ゼラチンハイドロゲルと G-CSF を併用した前十字靱帯再建術. 第 6 回日本再生医療学会 (2007.3.13-14. 横浜)
- 佐々木謙, 黒田良祐, 石田一成, 久保晴司, 松本知之, 美船 泰, 木下恵祐, 鄭 克真, 秋末敏宏, 田畑泰彦, 黒坂昌弘: 生体吸収性ゼラチンハイドロゲルと顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) を併用した前十字靱帯再建術. 第 22 回日本整形外科学会基礎学術集会 (2007.10.25-26. 浜松)
- 中山潤一, 藤岡宏幸, 名倉一成, 黒田良祐, 田畑泰彦, 黒坂昌弘: 自家骨軟骨移植における FGF-2 含有ゼラチンハイドロゲルの効果. 第 22 回日本整形外科学会基礎学術集会 (2007.10.25-26. 浜松)
- N. Takehara, Y. Tsutsumi, K. Tateishi, T. Ogata, H. Tanaka, T. Ueyama, T. Takahashi, T. Takamatsu, M. Fukushima, M. Komeda, M. Yamagishi, H. Yaku, Y. Tabata, H. Matsubara, and H. Oh. : Controlled intramyocardial-delivery of basic fibroblast growth factor combined with human cardiac stem cell transplantation in chronic myocardial infarction : A randomized controlled preclinical-trial. 2007 American Heart Association (2007.11.4-7. Orlando)
- S. Kawatsu, K. Oda, Y. Saiki, Y. Tabata, K. Tabayashi. : External application of rapamycin-eluting film at anastomotic site inhibits neointimal hyperplasia in a canine model. The Society for Thoracic Surgeons 43rd Annual Meeting (2007.1.29-31. San Diego)
- H. Fujiwara, Y. Saiki, K. Oda, S. Kawatsu, I. Yoshioka, N. Sakamoto, T. Ohashi, M. Sato, Y. Tabata, K. Tabayashi. : Modifying anastomotic site in thoracic aortic surgery by using biodegradable felt strips with or without basic fibroblast growth factor. The 8th Annual International Symposium on Advances in Understanding Aortic Diseases (2007.10.13-14. Tokyo)
- 佐藤真一, 新田能郎, 川本俊輔, 井口篤志, 賀来満夫, 田畑泰彦, 田林暁一: bFGF 徐放投与と G-CSF 全身投与は, 血管新生を促進し, 人工血管の耐感染能を向上させる. 第 107 回日本外科学会定期学術集会 (2007.4.11-13. 大阪)
- 佐藤真一, 新田能郎, 川本俊輔, 加賀谷智明, 佐藤敦彦, 河津 聡, 小久保弘晶, 吉岡一朗, 増田信也, 本吉直孝, 赤坂純逸, 小田克彦, 鎌田 誠, 齋木佳克, 崔 禎浩, 井口篤志, 賀来満夫, 田畑泰彦, 田林暁一: 人工血管移植後の耐感染能向上に関する研究. 第 6 回再生心臓血管外科治療研究会 (2007.2.21. 東京)

齋木佳克, 藤原英記, 佐藤真一, 田林暁一, 木村祐, 山本雅哉, 田畑泰彦: 大動脈吻合部応用補強材の臨床. 第4回再生医療材料研究会(2007.8.11. 京都)

S. Sato, Y. Nitta, S. Kawamoto, A. Iguchi, M. Kaku, Y. Tabata, K. Tabayashi.: Slow release of basic fibroblast growth factor and systemic administration of granulocyte colony-stimulating factor improve resistance against vascular graft infection. The 2nd Meeting of the International Federation for Artificial Organs(2007.10.28-31. Osaka)

戸部 賢, 小幡英章, 田畑泰彦, 齋藤: Drug Delivery System を応用した長時間作用型局所麻酔薬の作成. 日本ペインクリニック学会第41回学術集会(2007.7.6. 横浜)

大澤昌之, 上田寛樹, 古川洋志, 田畑泰彦, 山本有平: マウスにおけるヒアルロン酸の所属リンパ節への動態: リンパ向性ドラッグデリバリーシステムの開発—第一報—. 第16回日本形成外科学会基礎学術集会(2007.10.12. 神戸)

古川洋志, 大澤昌之, 山本有平, 上田寛樹, 田畑泰彦: マウスにおけるヒアルロン酸の所属リンパ節への動態について—所属リンパ節を標的としたドラッグデリバリーシステムの開発にむけて(第一報)—. 第34回日本マイクロサージャリー学会学術集会(2006.10.19. 福島)

堀江理恵, 中川隆之, 坂本達則, 小野和也, 伊藤壽一, 吉田雅貴, 林 直樹, 小川敏弘, 田畑泰彦: 難治性耳鳴治療における内耳リドカイン徐放に関する研究. 第10回日本組織工学会(2007.11.8-9. 東京)

松本剛一, 山本雅哉, 久保田英朗, 田畑泰彦, 木下鞠彦: BMP-2 含有ゼラチン- β TCP スポンジの顎顔面骨再生医療への応用—ラット下顎骨骨欠損部の再生実験—. 第29回日本バイオマテリアル学会大会(2007.11.26-27. 神戸)

堀俊太郎, 光家由紀子, 森元孝之, 辻上 弘, 菅谷 彰, 出口眞二, 田畑泰彦, 木下鞠彦: 歯周組織再生における b-FGF 含浸ゼラチンスポンジを用いた臨床応用. 第42回神奈川歯科大学学会(2007.12.8. 神奈川)

山口真一郎, 松田大輔, 鎌田要平, 小出三沙, 柳 献作, 平嶺浩子, 稲垣将文, 田村利之, 横矢重俊, 田畑泰彦, 木下鞠彦: 歯周組織・歯槽骨再生再生医療における bFGF 含浸ゼラチンスポンジの臨床応用. 第42回神奈川歯科大学学会(2007.12.8. 神奈川)

H. Harada, N. Fujiwara, T. Yokohama-Tamaki, T. Kagiya, Y. Tabata, and K. Ishizeki: Mechanisms on Maintenance of Dental Stem Cells and How to Make a Biotooth. 1st Asian Biomaterials Congress(2007.12.6-8. Tsukuba)

S. Kanokpanont, J. Rujsomnana, S. Prathumraj, Y. Tabata, W. Tanthapanichakoon: Sustained Releases of Curcumin from Modified Gelatin Hydrogels: In vivo study. 1st Asian Biomaterials Congress(2007.12.6-8. Tsukuba)

宮本正章, 高木 元, 太良修平, 安武正弘, 水野博司, 田畑泰彦, 水野杏一: 膠原病による難治性潰瘍に対する再生医療を応用した集学的治療—血管新生からマゴットセラピーまで—. 第19回日本アレルギー学会春季臨床大会(2007.4. 横浜)

宮本正章, 水野博司, 多川政弘, 米田正始, 田畑泰彦: 難治性末梢動脈閉塞性疾患(PAD)に対する総合的治療戦略—血管新生療法からマゴットセラピーまで—. 第32回日本足の外科学会学術集会(2007.6. 長崎)

宮本正章, 安武正弘, 高木 元, 高野仁司, 高木郁代, 太良修平, 水野博司, 米田正始, 田畑泰彦, 水野杏一: 血管再生医療を応用した難治性 PAD に対する総合的治療戦略—自己骨髄血管新生療法からマゴットセラピーまで—. 第11回心筋・血管新生療法研究会(2007.7. 東京)

宮本正章, 水野博司, 多川政弘, 田畑泰彦: 重症 PAD に対する総合的治療戦略—血管新生療法からマゴットセラピーまで—. 第23回日本医工学治療学会学術大会(2007.2. 大阪)

宮本正章, 水野博司, 多川政弘, 米田正始, 田畑泰彦: 重症難治性 PAD に対する総合的治療戦略—血管新生療法

からマゴットセラピーまでー、第 71 回日本循環器病学会総会学術集会(2007.3. 神戸)

相本隆幸, 内田英二, 田尻 孝, 中村慶春, 松下 晃, 勝野 暁, 張 一光, 川本聖郎, 宮本正章, 高野照夫, 田畑泰彦: 生体修復材料を用いた腸消化管吻合術の基礎的研究: 再生医療による新しい吻合手技. 第 19 回日本肝臓外科学会学術集会(2007.6. 横浜)

M. Miyamoto, M. Yasutaka, I. Takagi, H. Takano, K. Katoh, S. Tara, H. Ohtsubo, Y. Tabata, T. Takano.: Potein Therapy Using Control-Released b-FGF in Patients with Ischemic Limbs: a Possible Alternative to Bone Marrow Mononuclear Cell Implantation. The 71th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society (2007.3.15-17, Kobe)

2) 講演・シンポジウム

田畑泰彦: 先端医療を躍進させるバイオマテリアルの最前線, 「富士フイルム株式会社セミナー」(2007.1.17, 神奈川)

田畑泰彦: 再生医学と生体組織工学, 「神奈川科学技術アカデミーコースー再生医療の必須基礎と最前線に触れるー」(2007.1.19, 川崎)

田畑泰彦: 先端医療を支えるバイオマテリアルの最前線と今後の方向性, 「京都大学産婦人科同門会総会特別講演」(2007.1.21, 京都)

田畑泰彦: 先端医療の実現に不可欠な生体材料と DDS 技術の実際, 「第 15 回脊髄・末梢神経研究会」(2007.1.26, 東京)

田畑泰彦: DDS は再生医療, 生物医学研究, ヘルスケアのための基盤テクノロジー, 「大日本住友製薬株式会社セミナー」(2007.1.29, 茨木)

田畑泰彦: 生物学的研究及び先端医療を支える非ウイルス遺伝子導入技術, 「第 5 回遺伝子シンポジウム」(2007.2.2, 豊中)

田畑泰彦: 再生医療のための生体組織の再生誘導技術の現状と今後, 「第 18 回新潟分子病態・再生医学セミナー」(2007.2.9, 新潟)

田畑泰彦: DDS 技術を利用した血管新生誘導治療の現状, 「医工学フォーラムー2006 年度特別学術講演会ー」(2007.2.21, 京都)

Tabata, Y.: Advanced Medical Therapy Based on Biomaterials, 「2007 GIST International Workshop on Biomaterials and Nanomaterials」(2007.2.22-23, Gwangju)

田畑泰彦: 再生医療の現状とその基盤バイオ技術/再生医療が医療革新に及ぼすインパクト, 「第 5 期バイオビジネス・スクール」(2007.2.24, 大阪)

田畑泰彦: 再生医療のためのバイオマテリアル, 「第 6 回日本再生医療学会総会」(2007.3.13-15, 横浜)

田畑泰彦: 生体吸収性材料と再生医療, 「セーレン株式会社講演会」(2007.3.26, 福井)

田畑泰彦: 再生誘導治療(再生医療)を現実化する生体吸収性バイオマテリアル, 「日本金属学会 2007 春期大会」(2007.3.27-29, 習志野)

田畑泰彦: 先端医療を支える材料工学技術の最前線, 「新工業材料ゼミナール」(2007.4.4, 京都)

Tabata, Y.: Drug Delivery System of Signaling Molecules for Tissue Engineering, 「Keystone Meeting Tissue Engineering and Development Biology」(2007.4.12-17, snowbird)

田畑泰彦: これからの再生医療, 「扶桑薬品工業株式会社講演会」(2007.4.25, 大阪)

- Tabata, Y.: Tissue Regeneration Therapy Based on Drug Delivery System of Growth Factors and Genes. 「Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery Stem Cell and Tissue Engineering Symposium」(2007.5.10-12. Samson Turkey)
- Tabata, Y.: Bone and Cartilage Tissue Engineering Based on DDS. 「Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery Stem Cell and Tissue Engineering Symposium Satellite Symposium」(2007.5.13. Samson Turkey)
- 田畑泰彦: バイオマテリアルを用いた再生誘導治療と IVR への応用. 「第 36 回日本 IVR 学会総会」(2007.5.24-26. 金沢)
- 田畑泰彦: 再生医療と生物医学研究を支える DDS・バイオマテリアル技術. 「金沢大学がん研究所セミナー」(2007.5.24. 金沢)
- 田畑泰彦: 再生医療を実現する Tissue Engineering の最前線と今後の方向性. 「北海道大学大学院医学研究科皮膚科学分野特別講演」(2007.5.30. 札幌)
- Tabata, Y.: Biomaterials to Realize Tissue Engineering for Regenerative Medical Therapy. 「9th Annual Meeting of Korean Tissue Engineering and Regenerative Medicine Society」(2007.6.1. Korea)
- 田畑泰彦: 再生医療・臓器再建医学. 「京都大学医学研究科 大学院教育コース再生コースミーティング」(2007.6.8. 京都)
- 田畑泰彦: 最先端医療と生物医学研究を支えるバイオマテリアル. 「神戸大学整形外科講義」(2007.6.21. 神戸)
- 田畑泰彦: 生物医学・医療のための高分子材料. 「高分子の基礎と応用講座」(2007.6.22. 大阪)
- 田畑泰彦: 生体吸収性材料を活用した再生誘導治療. 「バクスター株式会社セミナー」(2007.6.22. 東京)
- Tabata, Y.: Frontiers of Biomaterial-Based Tissue Engineering in Regenerative Medical Therapy. 「The 2nd International Conference on Advances in Petrochemical and Polymers」(2007.6.25-28. Bangkok)
- Tabata, Y.: Non-viral Gene Carrier Necessary For Basic Researches of Biology and Medicine and Advanced Medical Therapy. 「Japan Society of Gene Therapy」(2007.6.28-30. Nagoya)
- Tabata, Y.: Genetic Engineering of Stem Cells by Non-Viral Carriers for Cell Therapy. 「International Conference on Materials for Advanced Technologies 2007」(2007.7.1-6. Singapore)
- Tabata, Y.: Regenerative Medical Therapy Based on Tissue Engineering Technologies. 「University of Washington Seminar」(2007.7.7. Seattle)
- Tabata, Y.: Preparation of iron oxide nanoparticles with different particle sizes and surface potentials for cell labeling. 「The 34th Annual meeting & Exposition of the Controlled Release Society」(2007.7.7-11. California)
- 田畑泰彦: 生体吸収性高分子を利用した再生誘導治療の実際. 「日東電工株式会社 東北事業部セミナー」(2007.7.27. 大崎)
- 田畑泰彦: バイオマテリアルからみた再生医療. 「第 28 回日本炎症・再生医学会」(2007.8.2-3. 東京)
- 田畑泰彦: バイオマテリアルが生みだす再生医療の実際と将来. 「特定非営利活動法人口腔医科学会 第 5 回学術講演会」(2007.8.11. 東京)
- Tabata, Y.: Strategies for Tissue Regeneration and Vascularization Based on Release Technology of Growth Factor. 「Advances in Tissue Engineering」(2007.8.15-18. Texas)
- 田畑泰彦: 再生誘導治療(再生医療)における生体組織工学の重要性と将来の方向性. 「再生医療の実際を知るための夏季集中講座」(2007.8.20. 京都)
- 田畑泰彦: 再生医療の最近の進歩と近未来技術予測. 大阪大学大学院工学研究科「技術中核マネージャー育成講座」

(2007.8.25. 吹田)

田畑泰彦：再生医療の最前線，「第9回日本褥瘡学会学術集会」(2007.9.7-8. 前橋)

田畑泰彦：再生医療と生物医学研究におけるバイオマテリアルの必要性，「第20回日本セラミックス秋季シンポジウム」(2007.9.12-14. 名古屋)

田畑泰彦：先端医療を支えるバイオマテリアル技術，「日本皮膚科学会東部支部学会シンポジウム」(2007.9.22-23. 札幌)

田畑泰彦：超電導バルク磁石を用いた磁気誘導ドラックデリバリーシステム(MDDS)の開発，「秋期低温工学学会発表会」(2007.9.25. 東京)

田畑泰彦：生体組織工学をベースとした再生誘導治療の実際，「バクスター株式会社セミナー」(2007.9.26 東京)

田畑泰彦：サイボーグの夢を見つづけて 再生医療の最先端，「芦屋川カレッジ第24期 必修コース 第15回」(2007.10.3. 芦屋)

Tabata, Y.: Drug and gene delivery system for tissue regeneration, 「10th International Conference on Advanced Materials」(2007.10.8-13. India)

田畑泰彦：サイボーグの夢を見つづけて，「平成19年度大手前高等学校文化講演会」(2007.10.17. 大阪)

田畑泰彦：先端医療を実現するバイオマテリアル技術の現状と将来，「第15回ムトウグループ学会」(2007.10.20. 東京)

田畑泰彦：Tissue Engineering から見た再生誘導治療の現状，「京都大学医学部附属病院免疫・膠原病内科カンファレンス」(2007.10.23. 京都)

田畑泰彦：ティッシュエンジニアリングと再生誘導治療，「第22回日本整形外科学会基礎学術集会」(2007.10.25-26. 浜松)

田畑泰彦：「再生医療」再生医療の現状とその基盤バイオ技術／再生医療が医療革新に及ぼすインパクト)，「バイオビジネススクール第6期」(2007.10.27. 大阪)

田畑泰彦：先端医療を支えるバイオマテリアル(生体材料)とDDSの最前線，「東京大学医療ナノテクノロジー人材養成ユニットにおける「ナノ医療工学1・2」特別講義」(2007.11.1. 東京)

Tabata, Y.: A New Concept of Biomaterials to Induce Tissue Regeneration, 「The Sixth Pacific Rim International Conference on Advanced Materials and Processing」(2007.11.5-9. Jeju)

田畑泰彦：生体組織の再生誘導を助けるバイオマテリアル，「第10回日本組織工学会 シンポジウム」(2007.11.8-9. 東京)

田畑泰彦：再生医学 生体組織工学をベースとした再生医療，「京都府立医科大学眼科学講義」(2007.11.13. 京都)

田畑泰彦：幹細胞への核酸導入のためのカチオン化多糖誘導体の合成，「日本化学繊維研究所 第65回講演会」(2007.11.13. 京都)

田畑泰彦：連携が生み出す医療ビジネス—サイボーグが作りたくて—，「ベンチャー2007KANSAI」(2007.11.14. 大阪)

田畑泰彦：再生誘導治療と基礎生物医学研究の関係，「和光純薬株式会社社内勉強会」(2007.11.15. 大阪)

田畑泰彦：再生医療の最前線—からだを蘇らせる材料科学・生物医学—，「広島大学付属福山中・高等学校講義」(2007.11.17-18. 広島)

田畑泰彦：バイオマテリアルから見た先端医療，「株式会社ネオシルク講演会」(2007.11.21. 広島)

田畑泰彦：臓器組織再生医学，「広島大学医歯薬総合研究所 講義」(2007.11.21. 広島)

田畑泰彦：再生誘導治療(再生医療)を実現するバイオマテリアル技術。「特許庁における先端技術研修」(2007.11.22, 東京)

Tabata, Y.: DDS Technology of Biosignaling Molecules to Realize Regenerative Medical Therapy. 「TERMIS-AP 2007」(2007.12.3-5, Tokyo)

Tabata, Y.: Regenerative Medical Therapy From the Viewpoint of Biomaterials. 「1st Asian Biomaterials Congress」(2007.12.6-8, Tsukuba)

Tabata, Y.: Frontier of Tissue Engineering Indispensable for Regenerative Medical Therapy. 「International Conference on Cellular & Molecular Bioengineering」(2007.12.10-12, Singapore)

田畑泰彦：再生医療のためのバイオマテリアル技術。「京都大学再生医科学研究所平成 19 年度学術講演」(2007.12.26, 京都)

組織修復材料学分野 Department of Reporative Materials

分野主任 教授 岩田 博夫

Prof. Hiroo Iwata

【研究概要】

当研究分野では、病気や怪我の治療に役立つ人工材料を創り出すための研究を行っています。それらの材料は人体の中で機能したり、体外での細胞操作・分析に効力を発揮するなど、その目的と機能は様々です。当研究分野では主に、高分子を中心とする有機材料、また、細胞や生体分子を制御・分析するための様々な技術を駆使することで、それらの研究を進めています。このような研究を通じて、再生医療や低侵襲手術のような高度先進医療に貢献したいと考えています。

1. 材料－生体システム間相互作用

医用材料は、細胞や組織のような生きた生体システムと接触し、その界面で起こる分子間相互作用を通して機能を発揮します。そのため、タンパク質吸着や細胞接着のような材料－生体システム間相互作用を詳細に理解し、また、それらを厳密に制御することは重要な課題です。当研究分野では、表面プラズモン共鳴分析装置、全反射蛍光顕微鏡、走査型共焦点レーザー顕微鏡などの光学的手法を用いてこれらの課題に取り組んでいます。また、これらの基礎研究の結果をもとに高感度バイオセンシング装置の開発を行っています。

2. バイオ人工臓器

細胞移植による臓器の再生医療に期待が寄せられています。しかし、移植された細胞の機能を高く維持するには、細胞がレシピエントの免疫系からの攻撃に打ち勝たなければなりません。これには、インスリン産生細胞やランゲルハンス島を高分子ハイドロゲルによってカプセル化したり、それらの表面を両親媒性高分子鎖によって修飾する

方法が有効であると考えられます。当研究分野では、さらに優れた機能をもつカプセル化材料を生み出すため、材料化学的観点から研究を行っています。また、バイオ人工臓臓を、その機能を維持しながら長期間にわたって凍結保存する技術の開発に取り組んでいます。これは、バイオ人工臓臓による糖尿病治療の実現にとって大きな問題です。

3. 移植細胞プロセッシング

再生医療の実現にとって、移植用の細胞をどのように調製するかという問題は、もっとも重要な課題の一つです。当研究分野では、ドーパミン作動性神経細胞、インスリン産生細胞、造血幹細胞、神経前駆細胞などを、安全かつ高効率に作り出すための細胞分化制御・増幅技術の開発に取り組んでいます。とくに、細胞外マトリックスや細胞増殖因子のような生体分子、あるいは、ストローマ細胞のような異種の細胞、微細構造をもつ人工材料表面を利用して、細胞の分化・増殖に適した人工環境を作り出したいと考えています。

4. 細胞チップ

多種類の生体分子の機能を迅速に分析するための細胞チップの開発を行っています。マイクロパターンをもつ基板材料を利用して多種類の DNA、あるいは、RNA、タンパク質、生細胞など配列固定し、それらを同時に細胞に作用させることで、固定された分子の生物学的機能を並列分析することが可能になります。また、細胞の形態や培養液の循環を厳密に制御する技術と組み合わせ、新たなパイオアッセイ法へと展開する試みも行っています。細胞アレイ分析法は、生物学研究のみならず、再生医療、医薬品開発、臨床検査などの様々な分野に大きなインパクトを与えるものと期待されます。

5. 遺伝子組換え型バイオマテリアル

神経幹細胞移植による中枢神経変性疾患や脳脊髄損傷の再生治療に大きな期待が寄せられるようになりました。ところが、これらの治療法を臨床の場で実現するには、多くの未解決な問題があります。中でも、移植細胞の生着率を向上させるための人工細胞外マトリックスの開発は、工学的なアプローチによって解決されるべき課題です。当分野では、細胞の機能を高度に制御できるタンパク質性材料の創出を目的として、遺伝子組換え技術を利用した組織修復材料の合理的な設計に取り組んでいます。

Our research group intends to develop engineered materials that contribute practically and efficiently to the advanced therapeutic interventions for the treatment of diseases and traumatic injuries. These materials are expected to exhibit diverse functions in vitro or in vivo. Fundamental and applied studies are undertaken to realize such biomaterials, taking advantage of organic materials, namely polymeric materials and state-of-the-art techniques for analyzing and handling biomolecules and cells.

Research subjects currently undertaken in our department are listed below.

Surface chemistry of biomedical materials

Protein adsorption and complement activation are involved in the initial reactions against man-made materials with living bodies. It is necessary to elucidate these mechanisms in relation to the surface properties so as to rationally design biocompatible surfaces of synthetic implants. Most of information on protein adsorption and complement activation by artificial polymeric materials has been accumulated from studies with polymeric materials. However, polymer

surfaces could not be assumed rigid and immobile at equilibrium. The polymer molecules in the vicinity of the surface or interface would exhibit motion and relaxation in response to the different interfacial environments. Thus, it is difficult to prepare model surfaces using polymeric materials for studies of the complement activation. Self-assembled monolayers of alkanethiols formed on a gold thin film provide well-defined model surfaces suitable for studies on interfacial phenomena and intermolecular interactions. The surface plasmon resonance technique can be applied to analyze the interfacial phenomena under water. We have been studying protein adsorption, complement activation, and cell adhesion on well-defined surfaces made of self-assembled monolayers using the surface plasmon resonance technique as well as other analytical techniques highly sensitive for interfacial molecular events.

Polymeric materials for cell transplantation therapy

Islets of Langerhans have been transplanted to treat insulin-dependent diabetes patients. Adult pancreatic β cells are known to have a poor growth capacity. Islets containing β cells from cadaver donors or animals should be employed. In bioartificial pancreas, islets are encapsulated into a semi-permeable membrane and then implanted into the diabetic patients to protect them from immune rejection. The semi-permeable membrane permits permeation of oxygen and nutrient which are necessary for islet survival, but prohibits contact of islet cells with components of the host immune system. We encapsulated islets into agarose-based microbeads and induced normalization of blood glucose levels of diabetic recipient mice by implanting 1000 microencapsulated hamster islets into the peritoneal cavity.

Cell processing technology for regenerative medicine

Cells and ECMs are important components for regenerative medicine. In recent years, many research groups have devoted enormous efforts to establish *in vitro* culture conditions in which stem cells, such as ES cells and tissue-derived stem cells, differentiate into various functional cells. Those cells are expected to be very useful for treatment of various diseases. Many kinds of stromal cells have been used to differentiate stem cells to functional cells. However, most of stromal cells preferentially used are derived from mice. Some authorities who are in charge of regulatory issue have pointed out the difficulty to rule out the possibility that retrovirus incorporated in mouse gene will be activated and transferred to stem cells and functional cells derived from stem cells. One of our research activities is focused on the development of stromal cell free culture systems used for the induction of ES cells to various functional cells. ES cells cultured on the substrate, onto which bioactive molecules isolated from stromal cells, are immobilized effectively differentiated to dopaminergic neurons.

Conventional cell culture substrates are not always suitable for cells used for regenerative medicine. Neurons differentiated from ES cells *in vitro* are very difficult to be collected from a cell culture flask without deterioration of cell functions, because long axons from neurons are easily damaged during detachment of neural cells from the cell culture substrate. Cell sheets but not single cells are needed in some instance, such as regeneration of a skin and a mucous membrane. We have been examining a film of cellulose derivatives for a cell culture substrate. Cells cultured on it are removed by cellulose-degrading enzyme, cellulase, without damaging cells on the substrate.

Cell chips for high-throughput functional screening

Transfectional array : Functional characterization of human genes may be one of the most challengeable tasks in

the post-genome era. Due to a huge number of novel genes discovered in genomics, high-throughput methods are required to express or silence in parallel thousands of genes in living cells. The objective of our study is to fabricate transfectional arrays through patterning of self-assembled monolayers on a gold substrate and the subsequent site-specific spotting of different expression vectors or small interfering RNAs.

Antibody array : Recent progress in stem cell research provides us with promising options of cell sources for use in tissue engineering. However, insufficient knowledge about specific surface antigens expressed on most of stem cells limits their application in regenerative medicine. To solve this problem, we developed a high-throughput analytical method for typing multiple membrane proteins. Our method is based on solid-phase cytometry using an antibody array prepared on a patterned alkanethiol monolayer.

ECM array : Arrays that display a panel of biologically-active substances on a flat plate are promising due to their potential use in functional screening over multiple samples in a parallel fashion. We developed cell-based arrays that combinatorially displayed various ECM-growth factor composites and used them for the parallel and rapid screening of biomaterials that serve to maintain NSCs and direct the differentiation of NSCs.

Biomaterials design by genetic engineering

Several research groups showed that transplantation of neural stem cells (NSCs) or NSC-derived progenitors to the site of lesions was effective for structural and functional restoration of the central nervous system. However, clinical applications of NSC further require methodological advances especially for controlling the engraftment, proliferation, migration, and differentiation of NSCs. Our approach is to construct composite biomaterials that consist of extracellular matrix (ECM) components and signaling molecules such as growth factors and cell adhesion molecules. We are employing genetic engineering to design rationally such composite biomaterials.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Kato K, Toda M, Iwata H : Antibody arrays for quantitative immunophenotyping. *Biomaterials* **28** (6) : 1289-1297 (2007)

Kato K., H. Sato, Iwata, H. : Ultrastructural study on the specific binding of genetically engineered epidermal growth factor to type I collagen fibrils, *Bioconjugate Chem.* **18** (6) , 2137-2143 (2007)

Kato, K., Ishimuro, T., Hirata, I., Arima, Y., Iwata, H. : High-throughput immunophenotyping by surface plasmon resonance imaging, *Anal. Chem.* **79** (22) , 8616-8623 (2007)

Nakajima, M., Ishimuro, T., Kato, K., Ko, I. -K., Hirata, I., Arima, Y., Iwata, H. : Combinatorial protein display for the cell-based screening of biomaterials that direct neural stem cell differentiation. *Biomaterials* **28** (6) : 1048-1060 (2007)

Teramura, Y., Iwata, H. : Label-free immunosensing for α -fetoprotein in human plasma using surface plasmon resonance *Anal. Biochem.* **365**, 201-207 (2007)

Teramura, Y., Kaneda, Y., Iwata, H. : Islets-encapsulation with ultra-thin layer-by-layer membranes of poly(vinyl alco-

- hol)through poly(ethylene glycol)-lipids anchored to cell surface. *Biomaterials* **28**, 4818-4825(2007)
- Teramura, Y., Kaneda, Y., Totani, T., Iwata, H. : Behavior of synthetic polymers immobilized on cell membrane, *Biomaterials* **29**(10) : 1345-1355(2008).
- Suzuki, T., Teramura, Y., Hata, H., Inokuma, K., Kanno, I., Iwata, H., Kotera, H. : Development of a micro biochip integrated traveling wave micropumps and surface Plasmon resonance imaging sensors. *Microsyst. Technol.* **13**, 1391-1396(2007)
- Arima Y., Iwata H. : Effect of wettability and surface functional groups on protein adsorption and cell adhesion using well-defined mixed self-assembled monolayers. *Biomaterials* **28**, 3074-3082(2007)
- Arima, Y., Iwata, H. : Effects of surface functional groups on protein adsorption and subsequent cell adhesion using self-assembled monolayers. *J. Mater. Chem.* **17**, 4079-4087(2007)
- Arima, Y., Toda, M., Iwata, H. : Complement activation on surfaces modified with ethylene glycol units. *Biomaterials* **29**, 551-560(2008)
- Toda, M., Kitazawa, T., Hirata, I., Hirano, Y., Iwata, H. : Complement activation on surfaces carrying amino groups. *Biomaterials* **29**(4) : 407-417(2008)
- Fujimoto, N., Fujita, S., Tsuji, T., Toguchida, J., Ida, K., Suginami, H., Iwata, H. : Microencapsulated feeder cells as a source of soluble factors for expansion of CD34(+)hematopoietic stem cells. *Biomaterials* **28**, 4795-4805(2007)
- Fujimoto, H., Kato, K., Iwata, H. : Use of microarrays in transfection of mammalian cells with dicer-digested small interfering RNAs, *Anal. Biochem.* **374**(2) : 417-422(2008)
- Ando, T., Yamazoe, H., Moriyasu, K., Ueda, Y., Iwata, H. : Induction of dopamine-releasing cells from primate embryonic stem cells enclosed in agarose microcapsules. *Tissue Eng.* **13**(10), 2539-2547(2007)
- Yamauchi, F., Okada, M., Kato, K., Jakt, L. M., Iwata, H. : Array-based functional screening for genes that regulate vascular endothelial differentiation of Flk1-positive progenitors derived from embryonic stem cells. *Biochim Biophys Acta* **1770**(8) : 1085-1097(2007)
- Chen, H., Sato, H., Totani, T., Iwata, H. : Detection of insulin-releasing cells using in situ immunoblotting. *Anal. Biochem.* **366**(2) : 137-143(2007)
- Ohashi, K., Yokoyama, T., Yamato, M., Kuge, H., Kanehiro, H., Tsutsumi, M., Amanuma, T., Iwata, H., Yang, J., Okano, T., Nakajima, Y. : Engineering functional two- and three-dimensional liver systems in vivo using hepatic tissue sheets. *Nat. Med.* **13**(7) : 880-885(2007)
- Sato, H., Suemori, H., Toguchida, J., Iwata, H. : Recombinant matrix protein for maintenance of undifferentiated primate embryonic stem cells. *Tissue Eng.* **13**(7) : 1539-1547(2007)
- Hirata, H., Murakami, Y., Miyamoto, Y., Tosaka, M., Inoue, K., Nagahashi, A., Jakt, L.M., Asahara, T., Iwata, H., Sawa, Y., Kawamata, S. : ALCAM(CD166) is a surface marker for early murine cardiomyocytes. *Cells Tissues Organs* **184**(3-4) : 172-180(2007)
- Ibii, T., Shimada, H., Miura, S., Fukuma, E., Sato, H., Iwata, H. : Possibility of insulin-producing cells derived from mouse embryonic stem cells for diabetes treatment. *J. Biosci. Bioeng.* **103**(2) : 140-146(2007)
- Nakaji-Hirabayashi, T., Kato, K., Arima, Y., Iwata, H. : Oriented immobilization of epidermal growth factor onto culture substrates for the selective expansion of neural stem cells. *Biomaterials* **28**(24) : 3517-3529(2007)

Nakaji-Hirabayashi, T., Kato, K., Arima, Y., Iwata, H. : Multifunctional chimeric proteins for the sequential regulation of neural stem cell differentiation, *Bioconjugate Chem.* in press.

2) 著 書

加藤功一, 岩田博夫: 細胞用抗体・マトリックスアレイ, 『マイクロアレイ・バイオチップの最新技術』【応用編】第8章(伊藤嘉浩監修, CMC 出版東京), 285-294(2007)

有馬祐介, 岩田博夫: パターン化自己組織化単分子膜を利用した細胞チップ, 「動物実験代替のためのバイオマテリアル・デバイス」(酒井康行, 民谷栄一監修, シーエムシー出版, 東京), 132-139(2007)

藤田 聡, 岩田 博夫: 細胞アレイとティッシュエンジニアリング, 「ティッシュエンジニアリング 2007」(田畑泰彦, 岡野光夫共編, 日本医学館, 東京), 138-146(2007)

3) 総 説

岩田博夫: 再生医療による糖尿病治療—膵島移植, バイオ人工臓, 幹細胞由来のインスリン分泌細胞の移植—, 治療, **89**: 2520-2526(2007)

加藤功一, 遺伝子工学によるバイオマテリアルの合理的設計, ケミカルエンジニアリング, 52(6), 35-39(2007).

寺村裕治, 岩田博夫: 免疫隔離法 —バイオ人工臓を中心に—, 遺伝子医学 MOOK 別冊

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

Iwata H. : Tissue engineering approach to treat type I diabetes. 1st Asian Biomaterials Congress(2007.12.6-8. Tsukuba)

加藤功一, 中路 正, 佐藤秀樹, 岩田博夫, 毛様体神経栄養因子—ラミニン結合ドメインキメラタンパク質の合成, 第6回日本再生医療学会総会(2007. 3.13-14. 横浜)

加藤功一, 佐藤秀樹, 岩田博夫, 神経幹細胞移植のためのコラーゲン—上皮細胞増殖因子複合体, 第56回高分子学会年次大会(2007.5.29-31. 京都)

加藤功一, 宮崎寛子, 寺村裕治, 岩田博夫: コラーゲン結合性キメラタンパク質を用いた神経細胞の機能制御, 第36回医用高分子シンポジウム(2007. 7.30-31. 東京)

加藤功一, 中路 正, 佐藤秀樹, 有馬祐介, 岩田博夫, 上皮細胞増殖因子を配向固定した神経幹細胞増幅基材の開発, 第130回ポリアル会(2007.7.7. 京都)

Kato K., Miyazaki H., Teramura Y., Iwata H. : Design of chimeric proteins for controlling neural cell functions in collagen scaffolds, International Symposium on Regenerative Medical Therapy(2007.9. 19-20. Kyoto)

Teramura, Y., Kaneda, Y., Iwata, H. : Enclosure of islets with poly(vinyl alcohol)membranes with nanometer in thickness, Nanomedicine International Symposium(2007.4.21. Okazaki)

寺村裕治, 金田成弘, 岩田博夫: ポリビニルアルコールを用いた膵島の薄膜カプセル化, 第56回高分子学会年次大会(2007.5.29. 京都)

寺村裕治, 岩田博夫: 高い生着能が期待できる移植用膵島修飾法, 第36回医用高分子シンポジウム(2007.7.30. 東京)

Teramura, Y., Kaneda, Y., Iwata, H.: Microencapsulation of islets with thin-layer membrane of poly(vinyl alcohol).
2007 CTS-IPITA-IXA Joint Conference (2007.9.18. Minneapolis)

Teramura, Y., Iwata, H.: Enclosure of islet in ultra-thin layer-by-layer membrane with anti-thrombogenic property.
JSAO and IFAO 2007 Joint Congress (2007.10.29. 大阪)

寺村裕治, 岩田博夫: 高い生着能が期待できる移植用脾島の修飾法. 第 29 回日本バイオマテリアル学会 (2007.11.27. 大阪)

Kawano, K., Teramura, Y., Oda, M., Suzuki, T., Kotera, H., Iwata, H.: Label-free immunosensing for α -fetoprotein in human plasma using surface plasmon resonance. 2007 International Conference on Solid State Devices and Materials (2007.9.21. つくば)

Tonami, H., Toda, M., Kuraishi, K., Toma, N., Matsushima S., Nakano, S., Kubota, S., Taki, W., Iwata, H.: Development of polymer-covered metallic stents using electrospinning, 1st International Symposium of Nanomedicine (April 21, 2007, 4.21. Okazaki)

外波弘之, 滝和郎, 倉石慶太, 中野恵之, 窪田真一郎, 戸田満秋, 岩田博夫: エレクトロスピンニング法を利用する脳血管内治療用カバードステントの開発, 第 29 回日本バイオマテリアル学会大会 (2007.11.26. 豊中)

外波弘之, 有馬祐介, 加藤功一, 川真田伸, 岩田博夫: 京都大学ナノメディシン融合教育ユニット 研究と人材育成の試み — バイオナノマテリアルコースの場合 —, 第 51 回日本学術会議材料工学連合講演会 (2007.11.28. 京都)

Tonami, H., Kuraishi, K., Nakanoc, S., Kubota, S., Toda, M., Toma, N., Matsushima, S., Ogawa, S., Taki, W., Iwata, H.: Development of covered stents for endovascular neurosurgery using electrospinning, 1st Asian Biomaterials Congress (2007.12.6-8. Tsukuba)

Arima, Y., Iwata, H.: Cell adhesion controlled by properties of outermost layers with nanometer in thickness, 1st International Symposium on Nanomedicine -from Basic to Applications- and 2nd Molecule-Based Information Transmission and Reception (2007.4.20-22. Okazaki)

有馬祐介, 岩田博夫: 混合自己組織化単分子膜を用いた細胞接着に及ぼす濡れ性および表面官能基の影響, 第 56 回高分子学会年次大会 (2007.5.29-31. 京都)

有馬祐介, 岩田博夫: 高分子材料と生体との相互作用—II. 各種官能基を有するモデル表面への細胞接着—, 第 36 回医用高分子シンポジウム (2007. 7.30-31. 東京)

Arima, Y., Iwata, H.: Tracking of cell adhesion process to self-assembled monolayer of alkanethiols with various functional groups, 2007 International Conference on Solid State Devices and Materials (2007.9.19-21 Tsukuba)

Arima, Y., Toda, M., Iwata, H.: Complement activation on poly(ethylene glycol) —modified surfaces, 1st Asian Biomaterials Congress (2007.12.6-8. Tsukuba)

Inoue, Y., Fujimoto, H., Ogino, T., Iwata, H.: Reverse electroporation with carbon nanotubes-loaded electrode for highly efficient gene transfer. International Conference on Solid State Devices and Materials, (2007. 9.19-21. Tsukuba)

井上祐貴, 藤本裕之, 岩田博夫: カーボンナノチューブの電場集中を利用した遺伝子導入アレイ, 第 36 回医用高分子シンポジウム (2007. 7.30-31. 東京)

井上祐貴, 藤本裕之, 岩田博夫: カーボンナノチューブ担持電極を利用したリバースエレクトロポレーション, シンポジウム「細胞アレイの最前線」, (2007. 7. 3. つくば)

- 戸田満秋, 有馬祐介, 岩田博夫, 高分子材料と生体との相互作用Ⅲ. 各種官能基を有するモデル表面による補体系の活性化, 第 36 回医用高分子シンポジウム(2007.7.30-31, 東京)
- 藤田 聡, 岩田博夫: 共培養型のマイクロウェル基板を用いた造血幹細胞数の機能面からの定量法, 第 6 回日本再生医療学会総会(2007.3.13-14, 横浜)
- 藤田 聡, 岩田博夫: マイクロウェル共培養デバイスを用いた幹細胞-支持細胞の細胞間相互作用の視覚的解析, 第 56 回高分子学会年次大会(2007.5.29-31, 京都)
- 滝口裕実, 岩田博夫: N-イソプロピルアクリルアミド共重合体薄膜を固定化した SPR センサー表面の評価, 第 56 回高分子学会年次大会(2007.5.29-31, 京都)
- 滝口裕実, 有馬祐介, 寺村裕治, 岩田博夫: 表面プラズモン励起蛍光法による腫瘍マーカーの高感度・短時間計測, 日本分析化学会第 56 年会(2007.9.19-21, 徳島)
- 藤本裕之, 加藤功一, 岩田博夫: トレハロースを用いた電気パルス印加型遺伝子導入アレイの保存安定化, 第 56 回高分子学会年次大会(2007.5.29-31, 京都)
- 中路 正, 加藤功一, 有馬祐介, 岩田博夫: 神経幹細胞の増殖と分化を段階的に制御できるキメラタンパク質の設計, 第 56 回高分子学会年次大会 (2007.5.29-31, 京都)
- 中路 正, 加藤功一, 有馬祐介, 岩田博夫: 神経幹細胞の分化制御のための細胞増殖因子配向固定表面の設計, 第 56 回高分子討論会 (2007.9.19-21, 名古屋)
- 中路 正, 加藤功一, 岩田博夫: キメラタンパク質を利用した神経幹細胞の増殖・分化制御材料の設計, 積水化学自然に学ぶものづくりフォーラム(2007.10.17, 京都)
- Nakaji-Hirabayashi, T., Kato, K., Iwata, H.: An approach to rationally design protein-based scaffolds for use in neural progenitor cell transplantation, The 2nd Meeting of the International Federation for Artificial Organs(2007.10.28-31, Osaka)
- 中路 正, 加藤功一, 岩田博夫: 神経幹細胞移植のための細胞接着性ケラチンスキュフォールドの設計, 第 29 回日本バイオマテリアル学会大会(2007.11.26-27, 大阪)
- 川井田真一, 井上祐貴, 藤本裕之, 岩田博夫: 細胞アレイを用いた迅速なタンパク質間相互作用測定法の試み, 日本バイオマテリアル学会 第 2 回関西若手研究発表会(2007.8.3, 大阪)
- 戸谷貴彦, 寺村裕治, 岩田博夫: ポリビニルアルコール誘導体を用いた細胞表面の修飾法, 第 36 回医用高分子シンポジウム(2007.7.30-31, 東京)
- 戸谷貴彦, 寺村裕治, 岩田博夫: PVA 誘導体を用いた臍島表面への血栓溶解酵素の固定化, 日本バイオマテリアル学会 第 2 回関西若手研究発表会(2007.8.3, 大阪)
- Totani, T., Teramura, Y., Iwata, H.: Cell surface modification using poly(vinyl alcohol) derivative, CTS-IPITA-IXA 2007 Joint Conference(2007.9.15-20, USA)
- Totani, T., Teramura, Y., Iwata, H.: Surface modification of islets using poly(vinyl alcohol) derivative, JSAO and IFAO 2007 Joint Congress (2007.10.28-31, Osaka)
- 戸谷貴彦, 寺村裕治, 岩田博夫: 高分子薄膜を介した臍島表面への Urokinase の固定化とその機能評価, 第 29 回日本バイオマテリアル学会大会(2007.11.26-27, 大阪)
- 平岡真希子, 中路 正, 加藤功一, 佐藤秀樹, 岩田博夫: ラミニン由来ペプチド融合キメラ蛋白質を担持したコラーゲンへの神経幹細胞の接着, 第 56 回高分子学会年次大会 (2007.5.29-31, 京都)
- 平岡真希子, 中路 正, 加藤功一, 佐藤秀樹, 岩田博夫: ラミニン由来ペプチド融合キメラ蛋白質を担持したコラー

ゲンへの神経幹細胞の接着，第 56 回高分子学会年次大会(2007.5.29-31，京都)

平岡真希子，中路 正，加藤功一，岩田博夫：ラミニン由来細胞接着ペプチドと vWF 由来コラーゲン結合ドメインからなるキメラタンパク質の合成，日本バイオマテリアル学会 第 2 回関西若手研究発表会(2007.8.3，大阪)

平岡真希子，中路 正，加藤功一，岩田博夫：中枢神経治療のための細胞接着性ペプチドコラーゲングル複合体，第 29 回日本バイオマテリアル学会大会(2007.11.26-27 大阪) 第 29 回日本バイオマテリアル学会大会(2007.11.26-27，大阪)

上田祐介，山添泰宗，岩田博夫：中空糸内に封入したカニクイザル ES 細胞のドーパミン神経細胞への分化誘導，第 53 回高分子研究発表会(2007.7.20，神戸)

江田昇平，井上祐貴，岩田博夫：デンドリマー修飾した金電極上でのエレクトロポレーション法を用いた細胞への遺伝子導入，第 53 回高分子研究発表会(2007.7.20，神戸)

小野大三郎，藤田 聡，岩田博夫：高分子材料と生体との相互作用－Ⅳ．微細構造表面への細胞接着－，第 36 回医用高分子シンポジウム(2007.7.30-31，東京)

宮崎寛子，牧 剛志，加藤功一，岩田博夫：神経細胞のマイクロパターン化を目指したプロテインディスプレイ，日本バイオマテリアル学会第 1 回関西若手研究発表会(2007.2.27，京都)

Miyazaki, H., Maki, T., Kato, K., Iwata, H.: Micropatterned antibodies for the site-addressable coculture of neurons and astrocytes, 1st International Symposium of Nanomedicine from Basic to Applications- 2nd Molecule-Based Information Transmission and Reception(2007.4.20-22，Okazaki)

金田成弘，寺村裕治，岩田博夫：高分子材料と生体との相互作用－Ⅰ．溶解分子鎖と細胞－，第 36 回医用高分子シンポジウム(2007.7.30，東京)

2) 講演・シンポジウム

岩田博夫：合成高分子と生体との相互作用の理解とその医療への応用，07-1 高分子学会講演会(2007.7.5，東京)

岩田博夫：先端医療材料の課題と未来，オルガテクノ 2007(2007.7.19，東京)

加藤功一：遺伝子工学によるバイオマテリアルの合理的設計，第 57 回医用高分子研究会(2007.3.7，東京)

加藤功一：再生医療のための細胞チップ分析，第 46 回日本生体医工学会(2007.4.24-26，仙台)

加藤功一：細胞チップ，第 6 回関西バイオの未来を考える会セミナー(2007.7.13，大阪)

加藤功一，中路正，宮崎寛子，平岡真希子，岩田博夫：中枢神経再生に向けた遺伝子組換え型バイオマテリアルの設計，第 29 回日本バイオマテリアル学会大会(2007.11.26-27，大阪)

Kato, K., Nakaji-Hirabayashi, T., Miyazaki, H., Hiraoka, M., Iwata, H.: Biomaterials design by genetic engineering toward cell-based therapy for neurodegenerative diseases, 2007 International Conference on Bionano Sciences(2007.12.5-8，Taipei)



生体物性学分野 Department of Mechanical Properties

客員教授 山本 伸子
Visiting Prof. Nobuko Yamamoto

【研究概要】

バイオチップに関する研究

DNA チップは多数の遺伝子を網羅的に解析できるツールとして研究では広く使用されている。我々は、大腸がん、胃がん予後診断、皮膚真菌症原因菌同定用チップをインクジェット法により作成し、その臨床評価を実施して有効性を確認した。これらの内容について京都大学再生医科学研究所の大学院生を対象に講義を行った。

We developed diagnostic DNA chips for RNA-based screening of colorectal cancer, detection of gastric cancer cell and identification of fungi involved in cutaneous mycosis and determined the clinical utility. I lectured on the contents for graduate students of Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- S. Yajima, M. Ishii, H. Matsushita, K. Aoyagi, K. Yoshimatsu, H. Kaneko, N. Yamamoto, T. Teramoto, T. Yoshida, Y. Matsumura and H. Sasaki. : Expression profiling of fecal colonocytes for RNA-based screening of colorectal cancer : *International Journal of Oncology* **31** (5), 1029-1037 (2007)
- K. Mori, T. Suzuki, H. Uozaki, H. Nakanishi, T. Ueda, Y. Matsuo, Y. Kodera, H. Sakamoto, M. Tatematsu, K. Mafune, N. Yamamoto, M. Sasako, T. Yoshida, M. Kaminishi, and H. Sasaki. : Detection of Minimal Gastric Cancer Cells in Peritoneal Washings by Focused Microarray Analysis with Multiple Markers : Implications for Predicting Recurrence *Annals of Surgery* **14** (5), 1674-1702 (2007)

2) 著 書

- 山本伸子, 小倉真哉: インクジェット法による臨床用 DNA マイクロアレイの開発, 「マイクロアレイ・バイオチップの最新技術」(伊藤嘉浩監修, シーエムシー出版, 東京) 40-49 (2007)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

- 山本伸子: インクジェット法による臨床用 DNA マイクロアレイの開発, 2007 年秋季第 68 回応用物理学会学術講演会(招待講演) (2007.9.4-8, 札幌)
- 坂本裕美, 森 和彦, 鈴木智博, 深川剛生, 山本伸子, 松野吉宏, 笹子三津留, 吉田輝彦, 佐々木博己: Prospective

evaluation of minichip for predicting recurrence of gastric cancer following curative resection, 2007 年日本癌学会学術総会(2007.10.3-5. 横浜)

佐藤友隆, 戸松宣博, 福井寿文, 高柳 淳, 川口正浩, 山本伸子, 天谷雅行, 清水信義: 真菌症原因菌同定チップの作成, 及び, 臨床評価, 第 51 回日本医真菌学会(2007.11.9-10. 高山)

再生統御学研究部門

発生分化研究分野

Department of Development and Differentiation

分野主任 教授 中辻 憲夫

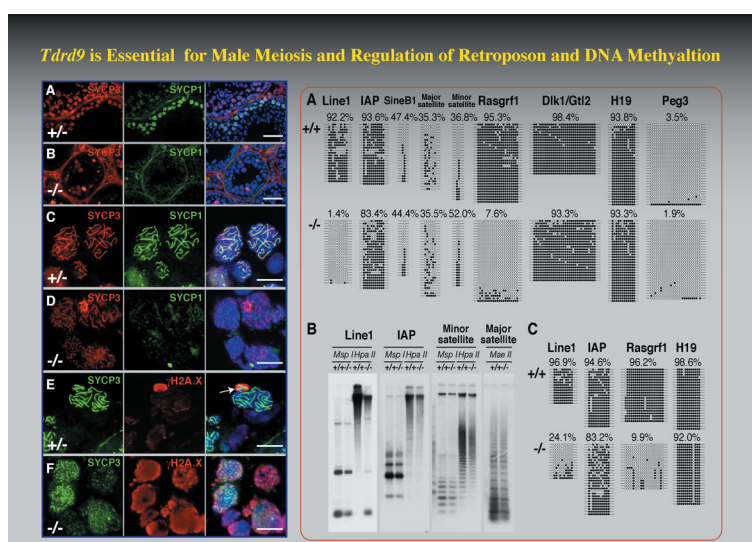
Prof. Norio Nakatsuji

【研究概要】

マウス生殖系列細胞の発生分化機構に関する研究

生殖細胞はゲノム情報を次世代に伝達し、個体発生の起点となる細胞系譜である。その発生分化プロセスではゲノム再プログラム化、個体発生の維持形成、DNA組換え等重要な生命現象が起こる。当研究グループでは、(1)生殖細胞細胞質に特徴的に観察される生殖顆粒 RNP 構造の構成分子同定と機能解析、(2)減数分裂期相同遺伝子組換えの分子メカニズムの研究、を進めている。

(1)Tudor ドメインの繰り返し構造を持つ TDRD1/MTR1, TDRD6, TDRD7/TRAP 蛋白質はいずれもマウス生殖顆粒に特異的に局在する。これら哺乳類 tudor 関連遺伝子群の遺伝学的、生化学的解析を進めると共に、生殖顆粒の単離精製条件の検討、同構造の構成蛋白質、RNA の網羅的同定を行っている。蛋白質分画は質量分析によるショットガン同定、RNA 分画はマイクロアレイ解析を用い、生殖細胞内の ribonucleoprotein (RNP) 構造の機能コンパートメント化に注目して研究を進めている。一方、Tdrd9/spindle-E 遺伝子を新たに単離同定し、遺伝子改変マウスの作出、表現型解析、分子機能の探索を行った。TDRD9 蛋白質は DEXH 型ヘリケースをコードし且つヌクレアーゼ活性を示す。同遺伝子改変マウスは雄生殖細胞の第一減数分裂の染色体対合に異常を示し、レトロトラン



DEXH helicase をコードする Tudor domain containing 9 (Tdrd9)/spinde-E 遺伝子改変マウスは雄生殖細胞特異的に減数分裂期相同染色体の対合異常が観察され、レトロトランスポゾン mRNA の発現上昇、ゲノム DNA メチル化異常等の興味深い表現型が観察される。

Targeted gene disruption of Tudor domain containing 9 (Tdrd9)/spinde-E, which encodes a DEXH-box helicase, leads to defective meiotic homologous chromosome synapses in the male. The Tdrd9 mutant mice also show increased mRNA expression of a class of endogenous retrotransposons, and CpG DNA methylation of cognate genomic elements are impaired.

スポン mRNA の発現上昇およびゲノム DNA の CpG 脱メチル化が観察される。このことから *Tdrd9* は生殖細胞のトランスポゾン制御を通じてゲノム情報を保護する役割を持ち、また RNA 制御とエピジェネティクスを繋ぐ極めて興味深い分子である事が明らかとなった。

(2) 相同遺伝子組換えの制御機構は分子、細胞生物学の重要な課題であると共に、その解明は効率の良い遺伝子改変技術を創出する基盤としても重要である。これまでに我々はマウス胎仔生殖細胞が培養下で自律的に減数分裂へ移行する事、およびその減数分裂移行を抑制する分子を同定しているが、新たに精原細胞由来樹立株を用いて体細胞分裂から減数分裂を誘導する培養実験条件を作出した。この培養条件を用いて減数分裂を促進および抑制するシグナル分子カスケードを同定したので、更に分子から個体レベルでの詳細な研究を進めている。樹立生殖細胞株を用いる同培養実験系は相同遺伝子組換え研究の有効な実験システムとなる。一方、相同遺伝子組換えへの関与が推測される遺伝子群を蛋白質ドメイン構造、発現パターン、進化的保存等によりゲノムデータベースからスクリーニングし、生化学的、遺伝学的機能解析を進めている。これらの研究により哺乳類相同遺伝子組換えの分子基盤を明らかにし、新たな遺伝子改変技術への応用を目指す。

The germline is the cell lineage fundamental for the ontogeny of individuals and for transmitting genetic information. During the differentiation of germ cells, intriguing and important biological processes, such as epigenetic reprogramming, establishment/maintenance of pluripotency and homologous recombination, take place. Our current research projects focus on: (1) molecular analyses of germ-line specific cytoplasmic ribonucleoprotein (RNP) structure, germinal granule/nuage, and (2) mechanisms and factors that regulate meiotic homologous recombination in mammals.

(1) TDRD1/MTR1, TDRD6 and TDRD7/TRAP contain multiple tudor domains and specifically localize to mouse germinal granule/nuage. We are carrying out genetic and biochemical studies on these mammalian tudor-related genes/proteins to reveal the functioning of germinal granule/nuage components. By using the TDRD proteins as specific molecular markers, we also have developed experimental conditions to isolate germinal granule/nuage and are now analyzing protein and RNA composition of the structure. Protein profile was obtained by shotgun identification by mass-spectrometry, and microarray analysis was applied to RNA fractions. Recently, we identified and cloned a novel germ-line specific *Tdrd* gene, *Tdrd9/spindle-E*. *Tdrd9* gene-targeted mice showed incomplete pairing of homologous chromosomes during male meiosis. The mutants also exhibited elevated mRNA expression of a class of retrotransposons, and CpG DNA methylation of cognate genomic elements were impaired. Thus, *Tdrd9* is an intriguing molecular clue that links RNA regulation and epigenetic control in mammals.

(2) Molecular mechanisms and regulation of homologous recombination are important research subjects in molecular and cell biology. We previously showed that primordial germ cells in mice autonomously enter into meiosis when cultured in vitro and identified a factor that suppresses the meiotic transition in vitro. Recently, we established another in vitro culture condition that induce meiotic transition of established germline stem cell line derived from spermatogonia. By using this culture method, we identified signaling pathways that promote and inhibit meiotic transition of mitotically dividing germline stem cells. Further biochemical and physiological characterization of these signaling pathways is currently underway. Meanwhile, we carried out genome database screening for candidate genes that possibly participate in homologous recombination in mice. Genetic and molecular studies on such gene functions are in progress. Through the understanding of molecular basis underlying homologous recombination, we aim to develop

a novel method for gene manipulation in mammalian cells.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Hasegawa, K., Cowan, A. B., Nakatsuji, N., Suemori, H. Efficient multicistronic expression of a transgene in human embryonic stem cells. *Stem Cells*, **25** : 1707-1712 (2007).
- Hosokawa, M., Shoji, M., Kitamura, K., Tanaka, T., Noce, T., Chuma, S., Nakatsuji, N. Tudor-related proteins TDRD1/MTR-1, TDRD6 and TDRD7/TRAP : Domain composition, intracellular localization, and function in male germ cells in mice. *Dev. Biol.*, **301** : 38-52 (2007).
- Hosseinkhani, M., Hasegawa, K., Ono, K., Kawamura, T., Takaya, T., Morimoto, T., Wada, H., Shimatsu, A., Prat, S. G., Suemori, H., Nakatsuji, N., Kita, T. Trichostatin A induces myocardial differentiation of monkey ES cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **356** : 386-391 (2007).
- Kanatsu-Shinohara, M., Muneto, T., Lee, J., Takenaka, M., Chuma, S., Nakatsuji, N., Horiuchi, T., Shinohara, T. Long-Term Culture of Male Germline Stem Cells from Hamster Testes. *Biol. Reprod.*, in press.
- Ma, F., Kambe, N., Wang, D., Shinoda, G., Fujino, H., Umeda, K., Fujisawa, A., Ma, L., Suemori, H., Nakatsuji, N., Miyachi, Y., Torii, R., Tsuji, K., Heike, T., Nakahata, T. Direct Development of Functionally Mature Tryptase/chymase Double Positive Connective Tissue-Type Mast Cells from Primate ES Cells. *Stem Cells*, in press.
- Matsumura, H., Tada, M., Otsuji, T., Yasuchika, K., Nakatsuji, N., Surani, A., Tada, T. Targeted chromosome elimination from ES-somatic hybrid cells. *Nat. Methods*, **4** : 23-25 (2007).
- Nakajima, F., Tokunaga, K., Nakatsuji, N. HLA Matching Estimations in a Hypothetical Bank of Human Embryonic Stem Cell Lines in the Japanese Population for Use in Cell Transplantation Therapy. *Stem Cells*, **25** : 983-985 (2007).
- Nakatsuji, N. Commentary : Irrational Japanese regulations hinder human embryonic stem cell research. *Nature Reports Stem Cells*, Published online : 9 August 2007 | doi : 10.1038/stemcells.2007.66
- Sumi, T., Tsuneyoshi, N., Nakatsuji, N., Suemori, H. Apoptosis and differentiation of human embryonic stem cells induced by sustained activation of c-Myc. *Oncogene*, **26** : 5564-5576 (2007).
- Senju, S., Suemori, H., Zembutsu, H., Uemura, Y., Hirata, S., Fukuma, D., Matsuyoshi, H., Shimomura, M., Haruta, M., Fukushima, S., Matsunaga, Y., Katagiri, T., Nakamura, Y., Furuya, M., Nakatsuji, N., Nishimura, Y. Genetically manipulated human embryonic stem cell-derived dendritic cells with immune regulatory function. *Stem Cells*, **25** : 2720-2729 (2007).

2) 著 書

- 安達啓子, 川瀬栄八郎, 中辻憲夫 : ES 細胞—その万能性. 「再生医療技術の最前線」(岡野光夫・大和雅之監修, シーエムシー出版, 東京) 69-75 (2007)

3) 総 説

末盛博文, 中辻憲夫: 使ってみたいバイオリソース大集合第12回: ヒト ES 細胞.細胞工学, **26**: 1172-1173(2007)

中辻憲夫, 長谷川光一, 安達啓子, 末盛博文: ヒト ES 細胞株の樹立研究と実用化への展望.医学のあゆみ, **220**: 131-138(2007)

中馬新一郎, 中辻憲夫: 哺乳類生殖細胞と生殖顆粒構造. 蛋白質核酸酵素, **52**: 2102-2108(2007)

高橋 淳, 中辻憲夫: ヒト ES 細胞を取り巻く状況: 総論. メディカル・サイエンス・ダイジェスト, **33**: 1245-1247(2007)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 講演・シンポジウム

中辻憲夫: ヒト ES 細胞をめぐる国内外の動きと再生医療および創薬利用への展望. 第21回 IBM ライフサイエンス天城セミナー(2007.2.10. 伊東)

中辻憲夫: ヒト ES 細胞株の樹立と医学研究. 日本生殖医療エンジニアリング研究会 招請講演(2007.2.25. 東京)

中辻憲夫: ヒト ES 細胞株の医学と創薬への活用: 日本の現状と将来展望. 第6回日本再生医療学会総会(2007.3.13. 横浜)

中辻憲夫: ヒト ES 細胞株の樹立と医学と創薬への応用. 化学工学会第72年会 特別講演(2007.3.20. 京都)

中辻憲夫: ヒト ES 細胞研究の現状と展望. 第27回日本医学会総会 シンポジウム「ES 細胞と体性幹細胞—幹細胞医学と再生医療」基調講演(2007.4.6. 大阪)

Norio Nakatsuji: Embryonic stem cells as versatile tools for biology, cell therapy and drug discovery. The Gurdon Institute Symposium on Germ Cells and Early Mammalian Development(2007.4.23. Cambridge, UK)

中辻憲夫: ヒト ES 細胞株の再生医学と創薬への応用. 第48回日本神経学会総会 教育講演(2007.5.18. 名古屋)

中辻憲夫: ヒト ES 細胞研究をめぐる国内外の現状と展望. 第55回日本輸血・細胞治療学会総会 教育講演(2007.6.1. 名古屋)

中辻憲夫: ヒト ES 細胞株を用いた医学研究と産業利用の現状と将来展望. 第6回国際バイオ EXPO 特別講演(2007.6.22. 東京)

Norio Nakatsuji: Human ES cell lines for biomedical research and drug discovery - Current status and future prospect. Kyoto University 21st Century COE Symposium on Integration of Transplantation Therapy and Regenerative Medicine(2007.6.30. Kyoto)

中辻憲夫: ヒト ES 細胞株の樹立と医学および創薬への応用. 第28回日本炎症・再生医学会 教育講演(2007.8.2. 東京)

Norio Nakatsuji: Human ES cell lines for biomedical research and drug discovery. International Symposium on Regenerative Medical Therapy(2007.9.19-20. Kyoto)

中辻憲夫: ヒト ES 細胞研究の国内外の現状と展望. 21世紀 COE シンポジウム「再生医療と生命倫理2」(2007.10.6. 京都)

中辻憲夫: ES 細胞を使った再生医療で病気を治す. かずさ DNA 研究所開所記念講演会(2007.10.13. 木更津)

中辻憲夫: ヒト ES 細胞株の樹立と医学および創薬への応用. 東京理科大学総合研究機構フォーラム 特別講演(2007.11.12. 東京)

Norio Nakatsuji: Human embryonic stem cell lines for biomedical research and drug discovery. 2007 Seoul Symposium on Stem Cell Research (2007.11.15, Seoul)

Norio Nakatsuji: Human ES cell lines for biomedical research and drug discovery. Tissue Engineering International and Regenerative Medicine Society Asia-Pacific Chapter Meeting 2007 (2007.12.3 Tokyo)

Masanobu Shoji, Takashi Tanaka, Kouichi Kitamura, Mihoko Hosokawa, Yuzuru Kato, Gen Kondoh, Katsuya Okawa, Hiroyuki Sasaki, Shinichiro Chuma, Norio Nakatsuji: REGULATION OF RETROELEMENT EXPRESSION AND GENOMIC DNA METHYLATION BY TDRD9/SPN-E IN THE GERMLINE. International Symposium on Regenerative Medical Therapy (2007.9.19-20, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University)

中馬新一郎, 中辻憲夫: マウス tudor 関連遺伝子群と生殖顆粒構造の解析, 特定領域研究「生殖細胞の発生プロセス・再プログラム化とエピジェネティクス」公開シンポジウム (2007.11.21-22, 東京)



再生誘導研究分野 Department of Stem Cell Biology

分野主任 教授 山中 伸弥

Prof. Shinya Yamanaka

【研究概要】

初期胚から樹立される胚性幹(ES)細胞は、分化多能性を維持したまま長期培養が可能であり、細胞移植療法の資源として期待されている。さらに核移植技術と組み合わせることにより拒絶反応の無い患者専用の ES 細胞を樹立できる可能性がある。しかし、ヒト胚利用に対して慎重な運用が求められている。胚を用いることなく、分化細胞から ES 細胞に類似した多能性幹細胞を直接に樹立することができたなら、倫理的問題や移植後の拒絶反応を回避することができる。そのためには分化細胞を初期化する因子の同定が重要である。

昨年、我々は ES 細胞で特異的に発現する遺伝子 Fbx15 のレポーターを持つ線維芽細胞に、4 つの遺伝子(Oct3/4, Sox2, Klf4 および c-Myc)をレトロウイルスベクターで導入することによって、ES 細胞と性質の良く似た人工多能性幹(induced pluripotent stem, iPS)細胞が作れることを報告した。しかし、この Fbx15-iPS 細胞は ES 細胞に近い性質を持つものの、遺伝子発現や分化能力については不十分な点があった。そこで ES 細胞の分化多能性に非常に重要な働きをする遺伝子である Nanog の発現を指標とし、再度検討を行なった。Nanog レポーターマウスの胎仔線維芽細胞に前述の 4 つの遺伝子を導入し、レポーターの発現を指標として Nanog-iPS 細胞の樹立に成功した。この細胞は Nanog, ERas や Esg1 などの ES 細胞のマーカー遺伝子を発現しており、マイクロアレイを用いた網羅的な解析から約 90% の遺伝子の発現が ES 細胞と同程度であることが分かった。分化能についても、初期胚に移植を行うことにより複数のクローンからキメラマウスが誕生した。このうち一部からは子孫も産まれてきており、Nanog-iPS 細胞は ES 細胞に匹敵する分化能力を有していることが示された。ところが、キメラマウスとその子孫の約 20% に腫瘍ができることが判明した。Nanog-iPS 細胞のゲノムには樹立段階で用いたレトロウイルスによって、原癌遺伝子である c-Myc を含む 4 つの外来遺伝子が 10 コピー以上も挿入されていた。詳細な解析の結果、こ

の *c-Myc* の再活性化が腫瘍形成の一因だと考えられた。以上の結果より、体細胞から ES 細胞に匹敵する分化能力を持つ iPS 細胞を作り出せることが明らかとなったが、医療への応用にはレトロウイルスを用いた方法を改善する必要がある。

次に我々はマウスと同じ遺伝子セットを用いてヒト iPS 細胞の作製にも成功した。ヒト iPS 細胞は報告されているヒト ES 細胞に類似した形態を示した。ヒト ES 細胞のマーカーである SSEAs, TRAs や NANOG を発現していた。他にも、増殖、テロメラーゼ活性、遺伝子発現、エピジェネティック状態などが ES 細胞と類似していた。ヒト iPS 細胞は胚様体や奇形腫形成により三胚葉系に分化することができた。さらにこれまでに確立された手法を用いて高効率にドーパミン産生ニューロンや心筋細胞への直接的な分化誘導を行うことができた。以上の結果より、マウスだけでなくヒト細胞でも既知因子を導入することにより iPS 細胞を樹立できることが明らかとなった。

前述のようにマウス iPS 細胞は生殖系列に寄与できるキメラマウスを作ることができることなど多くの点で ES 細胞と良く似た性質を有している。しかしながら、iPS 細胞樹立に用いたレトロウイルス由来の *c-Myc* 遺伝子の再活性化によりキメラマウスやその子孫マウスに腫瘍が発生することが分かり、再生医療へ用いるには安全面での問題が考えられた。我々は iPS 細胞作製の条件を改良することでレトロウイルスの *c-Myc* を用いず 3 因子だけでマウス繊維芽細胞から *Myc*⁻ (マイナス) iPS 細胞を樹立することに成功した。この *Myc*⁻ iPS 細胞は成体キメラマウスを作ることができた。これらのキメラマウスからは現在のところ腫瘍の形成は認められていない。さらに、ヒトの細胞からも同様に *Myc*⁻ iPS 細胞を樹立することに成功した。これらの成果は iPS 細胞の再生医療への応用に向け重要な知見であると考ええる。

Embryonic stem (ES) cells, derived from the inner cell mass of mammalian blastocysts, have the ability to grow indefinitely while maintaining pluripotency. These properties have raised the hope that ES cells might be used to treat a host of degenerative diseases, such as Parkinson's disease, spinal cord injury, and diabetes. However, clinical application of human ES cells faces difficulties regarding use of human embryos, as well as tissue rejection following implantation. One way to circumvent these issues is to generate pluripotent cells directly from somatic cells. A critical step toward this goal is the identification of factors that induce pluripotency in somatic cells.



図1 【Nanog-iPS 由来キメラマウス】
Nanog-iPS 細胞由来のキメラマウスの子供 (F1).
Germline chimeras from Nanog-iPS cells (F1).

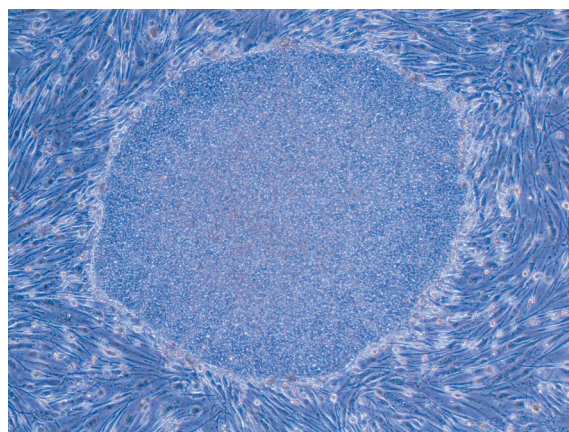


図2 【ヒト iPS 細胞】
ヒト成人皮膚細胞から作製した iPS 細胞.
Human iPS cells derived from adult human dermal fibroblasts.

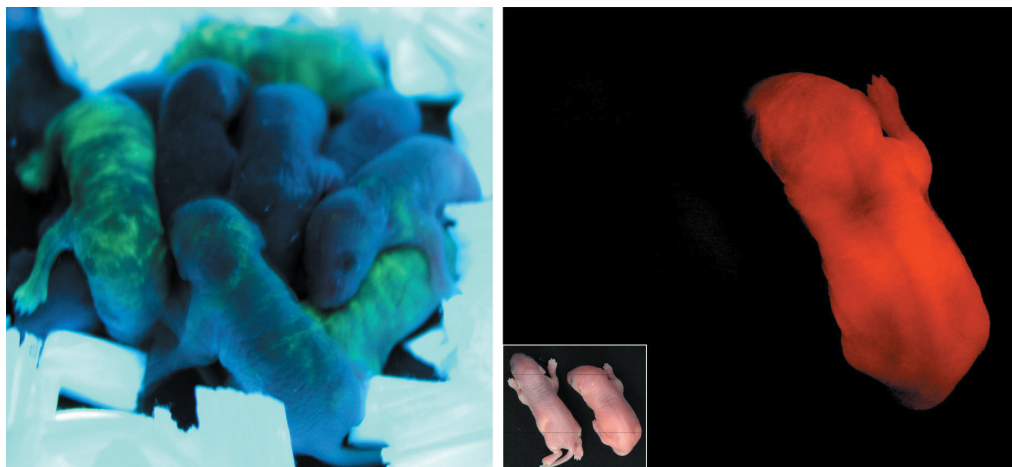


図3 【Myc⁻ iPS 由来キメラマウス】

Myc⁻ iPS 細胞由来のキメラマウス(左：マウス胎仔繊維芽細胞由来 Myc⁻ iPS 細胞. 緑色蛍光(GFP)を発現する. 右：成体マウス尻尾繊維芽細胞由来 Myc⁻ iPS 細胞. 赤色蛍光(DsRed)を発現する.)

Chimeric mice obtained by blastocyst injection of Myc⁻ iPS cells derived from mouse embryonic fibroblasts (left, green) or tail-tip fibroblasts (right, red). tip fibroblast-derived iPS cells

Last year, we demonstrated induction of induced pluripotent stem (iPS) cells from mouse embryonic or adult fibroblasts by introducing four factors, Oct3/4, Sox2, c-Myc, and Klf4 and by selection for *Fbx15* expression. These *Fbx15*-iPS cells are similar to embryonic stem (ES) cells in morphology, proliferation and teratoma formation. However, these cells had clear difference in global gene expression profile and differential potential from ES cells. Then we tried to find fully reprogrammed cells by using more ES cell specific marker than *Fbx15* and focused on *Nanog*, an essential gene for maintenance of pluripotent state in ES cells. We isolated embryonic fibroblasts (MEFs) from *Nanog* reporter mice and introduced four factors. After a few weeks, ES-like colonies were emerged and were selected as *Nanog*-iPS cells. *Nanog*-iPS cells showed ES-like morphology and gene expression profile. *Nanog*-iPS cells had a potential to differentiate into three germ layers after the injection into nude mice, and make adult chimeric mice. Moreover, eight out of twelve clones transmitted through the germ-line to the next generation. However, approximately 20% of the offspring developed tumors, where c-Myc transgene was reactivated. Thus iPS cells competent for germ-line chimeras can be obtained from MEFs, but retroviral introduction of c-Myc should be avoided for clinical application.

We also established iPS cells from adult human dermal fibroblasts by introducing same four factors. Human iPS cells formed tightly packed and flat colonies. Each cell exhibited morphology similar to that of human ES cells, characterized by large nuclei and scant cytoplasm. They expressed hES cell-specific surface antigens, including SSEAs, TRAs and NANOG protein. Human iPS cells also had growth potentials, gene expression patterns, telomerase activities and epigenetic statuses as similar level to human ES cells. Human iPS cells could differentiate into three germ layers by embryoid body formation and teratoma formation. Additionally, they differentiated directly into dopaminergic neurons and functional cardiomyocytes in vitro by established methods. These data suggested that pluripotent cells could be generated from not only mouse but also human fibroblast culture with a few defined factors.

Mouse iPS cells are indistinguishable from ES cells in many aspects and produce germline-competent chimeras. Reactivation of the c-Myc retrovirus, however, results in an increased tumorigenicity in the chimeras and progeny mice, thus hindering clinical applications. In the current study, we developed a modified protocol for the induction of iPS cells, which does not require the Myc retrovirus. Elimination of c-Myc sharply reduces tumorigenesis, as measured by

cancer-related deaths of chimeric mice derived from iPS cells. Furthermore, we were able to generate human iPS cells from adult dermal fibroblasts without MYC. These findings are important for the clinical application of the iPS cell technology.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Takahashi, K., Okita, K., Nakagawa, M., and Yamanaka, S. : Induction of pluripotent stem cells from fibroblast cultures. Nat. Protoc. **2** : 3081-3089 (2007)
- Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., and Yamanaka, S. : Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell **131** : 861-872 (2007)
- Yoshikane, N., Nakamura, N., Ueda, R., Ueno, N., Yamanaka, S., and Nakamura, M. : Drosophila NAT1, a homolog of the vertebrate translational regulator NAT1/DAP5/p97, is required for embryonic germband extension and metamorphosis. Dev. Growth Differ. **49** : 623-634 (2007)
- Okita, K., Ichisaka, T., and Yamanaka, S. : Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. Nature **448** : 313-317 (2007)
- Uemoto, Y., Suzuki, S., Terada, N., Ohno, N., Ohno, S., Yamanaka, S., and Komada, M. : Specific role of the truncated betaIV-spectrin Sigma6 in sodium channel clustering at axon initial segments and nodes of Ranvier. J. Biol. Chem. **282** : 6548-6555 (2007)

2) 総説

- Lewitzky, M., Yamanaka, S. : Reprogramming somatic cells towards pluripotency by defined factors. Curr. Opin. in Biotechnol. **18** : 467-473 (2007)
- 高橋和利, 沖田圭介, 山中伸弥 : 遺伝子導入による万能細胞の作成. 関節外科. **26** : 103-104 (2007)
- 沖田圭介, 山中伸弥 : 人工多能性幹細胞の開発. 細胞工学 **26** : 1160-1161 (2007)
- 高橋和利, 沖田圭介, 山中伸弥 : 遺伝子導入による万能細胞の作製. 再生医療. **6** : 52-57, (2007)
- 沖田圭介, 高橋和利, 山中伸弥 : 線維芽細胞からの誘導多能性幹細胞. ティッシュエンジニアリング 2007. 19-23 (2007)
- 八戸宏二郎, 山中伸弥 : 再生医学の新時代—テラーメード多能性幹細胞の誘導法. 医学のあゆみ. **222** : 143 (2007)
- Yamanaka, S. : Strategies and new developments in the generation of patient-specific pluripotent stem cells. Cell Stem Cell. **1** : 39-49 (2007)
- 山中伸弥 : ES 細胞. 分子細胞治療. **6** : 95-97 (2007)
- 山中伸弥 : 序 : 幹細胞生物学の現状と展望. 細胞工学. **26** : 482-484 (2007)
- 高橋和利, 山中伸弥 : 体細胞培養から誘導される人工万能幹細胞. 細胞工学. **26** : 489-492, (2007)
- 中川誠人, 高橋和利, 山中伸弥 : ES 細胞の再生医療への応用 : 多能性幹細胞を体細胞から作る. 再生医療. **6** : 81-85 (2007)
- 山中伸弥 : 体細胞から誘導する多能性幹 (iPS) 細胞. 治療. **89** : 1954-1958 (2007)

山中伸弥：オーダーメイド万能幹細胞への挑戦，実験医学，**25**：450-454(2007)

高橋和利，山中伸弥：特定因子による多能性幹細胞の誘導，実験医学，**25**：479-483(2007)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

山中伸弥：「多能性幹細胞－現状と展望」について，文部科学省 委託研究開発事業 再生医療の実現化プロジェクト 第3回成果発表会(公開シンポジウム)(2007.3.10, 東京)

岩脇隆夫，赤井良子，山中伸弥，河野憲二：哺乳動物の発生過程における IRE1 α の役割，BMB2007(第30回日本分子生物学会年会 第80回日本生化学会大会 合同大会)ワークショップ(2007.12.12, 神奈川)

岩脇隆夫，赤井良子，山中伸弥，河野憲二：哺乳動物の発生過程における IRE1 α の役割，BMB2007(第30回日本分子生物学会年会 第80回日本生化学会大会 合同大会)(2007.12.14, 神奈川)

山中伸弥：人工多能性幹(iPS)細胞研究の進歩，科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)「免疫難病・感染症等の先進医療技術」第4回公開シンポジウム(2007.12.14, 東京)

Nakagawa, M., Takahashi, K., Okita, K., Ichisaka, T., and Yamanaka, S. : Regulatory mechanism for production of induced pluripotent stem (iPS) cells. 5th ISSCR Annual Meeting (2007.6.17-20, オーストラリア)

Nakagawa, M., Takahashi, K., Okita, K., Ichisaka, T., and Yamanaka, S. : Regulatory mechanism for production of induced pluripotent stem (iPS) cells. 京都大学再生医科学研究所，熊本大学発生医学研究センター，慶應義塾大学，CDB Joint Forum (2007.9.5-6, 神戸)

Nakagawa, M., Takahashi, K., Okita, K., Ichisaka, T., and Yamanaka, S. : Generation of induced pluripotent stem (iPS) cells by family genes. BMB2007(第30回日本分子生物学会年会 第80回日本生化学会大会 合同大会)(2007.12.12, 神奈川)

高橋和利，沖田圭介，中川誠人，山中伸弥 人工多能性幹細胞作成法の改良，BMB2007(第30回日本分子生物学会年会 第80回日本生化学会大会 合同大会)(2007.12.12, 神奈川)

高橋和利：ヒト人工多能性幹細胞の樹立，科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)「免疫難病・感染症等の先進医療技術」第4回公開シンポジウム(2007.12.14, 東京)

小柳三千代，青井貴之，沖田圭介，高橋和利，中川誠人，山中伸弥：マウス体細胞の初期化に関わる microRNA の探索とその機能解析，BMB2007(第30回日本分子生物学会年会 第80回日本生化学会大会 合同大会)(2007.12.11, 神奈川)

小柳三千代，青井貴之，沖田圭介，高橋和利，中川誠人，山中伸弥：マウス体細胞の初期化に関わる microRNA の探索とその機能解析，BMB2007(第30回日本分子生物学会年会 第80回日本生化学会大会 合同大会)(2007.12.12, 神奈川)

小柳三千代：マウス細胞の初期化に関わる microRNA の探索とその機能解析，科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)「免疫難病・感染症等の先進医療技術」第4回公開シンポジウム(2007.12.14, 東京)

沖田圭介，一阪朋子，山中伸弥：Nanog レポーターを用いた誘導多能性幹細胞の樹立，第5回幹細胞シンポジウム(2007.5.19, 淡路)

Okita, K., Ichisaka, T., and Yamanaka, S. : Germ-line competency of mouse induced pluripotent stem cells selected for Nanog expression. 5th ISSCR Annual Meeting (2007.6.17-20, オーストラリア)

沖田圭介, 一阪朋子, 山中伸弥: Nanog レポーターを用いた誘導多能性幹細胞の樹立. 第 28 回日本炎症・再生医学会(2007.8.3. 東京)

Okita, K., Ichisaka, T., and Yamanaka, S.: Germ-line competency of mouse induced pluripotent stem cells selected for nanog expression. 再生医療に関する京都大学再生医科学研究所国際シンポジウム(2007.9.19-20. 京都)

沖田圭介, 一阪朋子, 山中伸弥: Nanog レポーターを用いた人工多能性幹細胞の樹立. BMB2007(第 30 回日本分子生物学会年会 第 80 回日本生化学会大会 合同大会)(2007.12.12. 神奈川)

八戸宏二郎, 青井貴之, 沖田圭介, 高橋和利, 中川誠人, 山中伸弥: 人工多能性幹細胞におけるレトロウイルス挿入部位の解析. BMB2007(第 30 回日本分子生物学会年会 第 80 回日本生化学会大会 合同大会)(2007.12.12. 神奈川)

青井貴之: 成体マウスからの生殖系列に分化可能な人工多能性幹細胞誘導. 科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)「免疫難病・感染症等の先進医療技術」第 4 回公開シンポジウム(2007.12.14. 東京)

青井貴之, 一阪朋子, 高橋和利, 沖田圭介, 中川誠人, 山中伸弥: 成体マウスからの生殖系列に分化可能な人工多能性幹細胞誘導. BMB2007(第 30 回日本分子生物学会年会 第 80 回日本生化学会大会 合同大会)(2007.12.12. 神奈川)

青井貴之, 一阪朋子, 高橋和利, 沖田圭介, 中川誠人, 山中伸弥: 成体マウスからの生殖系列に分化可能な人工多能性幹細胞誘導. BMB2007(第 30 回日本分子生物学会年会 第 80 回日本生化学会大会 合同大会)(2007.12.11. 神奈川)

Miura, K., Ogawa, D., Okada, Y., Okita, K., Takahashi, K., Nakagawa, M., Yamanaka, S., and Okano, H.: Neural derivation from induced pluripotent stem cells. 京都大学医学部附属病院 21 世紀 COE プログラム「融合的移植再生治療を目指す国際拠点形成」平成 19 年度国際シンポジウム(2007.6.29-30. 京都)

三浦恭子, 小川大輔, 岡田洋平, 沖田圭介, 高橋和利, 中川誠人, 山中伸弥, 岡野英之: iPS(induced pluripotent stem)細胞を用いた神経細胞の誘導. 第 28 回日本炎症・再生医学会(2007.8.2. 東京)

Miura, K., Ogawa, D., Nishino, M., Tomisato, S., Okada, Y., Ikeda, E., Okita, K., Takahashi, K., Kohda, K., Yuzaki, M., Yamanaka, S., and Okano, H.: Neural derivation from induced pluripotent stem cells. 日本分子生物学会 第 30 回日本分子生物学会年会(2007.12.11. 神奈川)

Miura, K., Ogawa, D., Nishino, M., Tomisato, S., Okada, Y., Ikeda, E., Okita, K., Takahashi, K., Kohda, K., Yuzaki, M., Yamanaka, S., and Okano, H.: Neural derivation from induced pluripotent stem cells. BMB2007(第 30 回日本分子生物学会年会 第 80 回日本生化学会大会 合同大会)(2007.12.12. 神奈川)

三浦恭子: 人工多能性幹(iPS)細胞を用いた神経系細胞の誘導. 科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)「免疫難病・感染症等の先進医療技術」第 4 回公開シンポジウム(2007.12.14. 東京)

2) 講演・シンポジウム

山中伸弥: 人工万能幹細胞の可能性と課題, 東京テクノ・フォーラム 21 第 99 回研究交流会(2007.1.15. 東京)

Yamanaka, S.: Yin and Yang of induced pluripotent stem (iPS) cells, Nara Institute of Science and Technology, The 21st Century COE Program International Symposium(2007.1.16. 奈良)

山中伸弥: 人工万能細胞(iPS 細胞)の可能性, プロジェクト形成研究会 C 第 5 回研究会(2007.1.19. 名古屋)

山中伸弥: 人工万能幹(iPS)細胞の可能性と課題, 国立国際医療センター 第 31 回医薬会セミナー(2007.1.24. 東京)

Yamanaka, S. : Yin and Yang of induced pluripotent stem (iPS) cells, Hiroshima University 21st Century COE Program, The Fourth International Symposium (2007.2.7. 広島)

山中伸弥：人工万能幹 (iPS) 細胞の可能性と課題，平成 14～18 年度文部科学省特定領域研究 糖鎖によるタンパク質と分子複合体の機能調節 第 5 回公開シンポジウム (2007.2.9. 東京)

山中伸弥：人工万能細胞の可能性，日本弁理士会近畿支部 2006 年度ベンチャーサポーターズ勉強会 (2007.2.10. 大阪)

山中伸弥：癌関連因子による体細胞の初期化誘導，平成 18 年度文部科学省 科学研究費補助金がん研究に関わる特定領域 がん特定研究合同シンポジウム (2007.2.23. 東京)

山中伸弥：人工万能幹 (iPS) 細胞の可能性と課題，信州大学 信州循環器イブニングセミナー (2007.2.28. 長野)

山中伸弥：人工万能幹 (iPS) 細胞の可能性と課題，第 6 回日本再生医療学会総会 (2007.3.13. 横浜)

Yamanaka, S. : Generation of Pluripotency by Defined Factors, Center for Developmental Biology, RIKEN Kobe Institute, CDB Symposium 2007 (2007.3.28. 神戸)

山中伸弥：人工万能幹 (iPS) 細胞の可能性と課題，第 27 回日本医学会総会 (2007.4.6. 大阪)

山中伸弥：人工万能幹 (iPS) 細胞の可能性と課題，第 23 回 Health&Science twenty-twenty (2007.4.10. 東京)

山中伸弥：人工万能幹 (iPS) 細胞の可能性と課題，第 6 回 Cutting Edge Forum (CEF) (2007.4.11. 大阪)

山中伸弥：万能細胞遺伝子，科学技術政策研究所シンポジウム 科学技術と社会をつなぐ～ナイスステップな研究者 2006 からのメッセージ～ (2007.4.13. 東京)

山中伸弥：人工万能幹細胞の可能性と課題，熊本大学大学院セミナー (2007.4.18. 熊本)

Takahashi, K., Okita, K., Nakagawa, M., Aoi, T., Ichisaka, T., and Yamanaka, S. : Generation of high quality iPS cells, 2nd International Conference on Cell Therapy and Regenerative Medicine (2007.4.24. スペイン)

山中伸弥：人工万能幹 (iPS) 細胞の可能性と課題，第 4 回リン酸化ネットワーク研究会 (2007.5.12. 福岡)

山中伸弥：iPS 細胞の最前線と今後の戦略，バイオフィナンスギルド第 5 期セミナー (5 月度) (2007.5.17. 東京)

山中伸弥，一阪朋子，沖田圭介，高橋和利：人工万能幹 (iPS) 細胞の可能性と課題，第 54 回日本実験動物学会総会 (2007.5.24. 東京)

山中伸弥：人工万能幹細胞の可能性と課題，第 80 回日本整形外科学会学術総会 (2007.5.26. 神戸)

山中伸弥：digital differential display から見てきた ES 細胞の秘密，特定領域研究技術開発計画班会議 (2007.5.28. 静岡)

Takahashi, K., Okita, K., Nakagawa, M., Aoi, T., Ichisaka, T., and Yamanaka, S. : Generation of high quality iPS cells, 第 40 回日本発生生物学会・第 59 回日本細胞生物学会合同大会 (2007.5.30. 福岡)

山中伸弥：人工多能性幹 (iPS) 細胞の現状と課題，第 3 回再生医療情報交換会 (2007.6.12. 大阪)

山中伸弥：人工万能幹 (iPS) 細胞の可能性と課題，第 80 回日本内分泌学会学術総会 (2007.6.15. 東京)

Takahashi, K., Okita, K., Nakagawa, M., Aoi, T., Ichisaka, T., and Yamanaka, S. : Generation of high quality iPS cells, 5th ISSCR Annual Meeting (2007.6.18. オーストラリア)

山中伸弥：人工万能幹 (iPS) 細胞の可能性と課題，文部科学省 第 46 回特定胚及びヒト ES 細胞研究専門委員会 (2007.6.26. 東京)

山中伸弥：Generation of pluripotency by defined factors, 第 13 回日本遺伝子治療学会 (2007.6.29. 名古屋)

山中伸弥：人工万能幹 (iPS) 細胞の可能性と課題，第 10 回記念阪大医療組織工学フォーラム (2007.6.29. 大阪)

山中伸弥：iPS 細胞の課題と可能性，第 21 回モロシヌス研究会 (2007.6.30. 兵庫)

山中伸弥：Nanog-GFP マウスと第2世代人工万能幹細胞，第17回日本サイトメトリー学会学術集会ランチョンセミナー(2007.7.6. 千葉)

Yamanaka, S. : Induction of pluripotency by defined factors, University of Sheffield 2007 International One Day Symposium “Human Embryonic Stem Cells - Progress Towards Cell Therapy”(2007.7.13. イギリス)

Yamanaka, S. : Induction of pluripotency by defined factors, Stem Cell Manchester 2007 Conference(2007.7.16. イギリス)

山中伸弥：万能幹細胞とはなかに？，京都大学再生医科学研究所第2回公開講演会(2007.7.28. 京都)

山中伸弥：人工万能幹(iPS)細胞の可能性と課題，第28回日本炎症・再生医学会(2007.8.2. 東京)

山中伸弥：人工万能幹(iPS)細胞の可能性と課題，第25回日本ヒト細胞学会学術集会(2007.8.3. 東京)

山中伸弥：人工万能幹(iPS)細胞の可能性と課題，生化学若い研究者の会 第47回生命科学 夏の学校(2007.8.4. 埼玉)

山中伸弥：Induction of pluripotency by defined factors, 理化学研究所横浜研究所セミナー(2007.8.8. 横浜)

山中伸弥：人工万能(iPS)幹細胞の可能性と課題，平成19年度大阪市立大学整形外科同門勤務医会(2007.8.25. 大阪)

山中伸弥：人工多能性幹(iPS)細胞の可能性と課題，第1回 ClassA システムバイオロジーセミナー in 関西(2007.8.30. 大阪)

山中伸弥：人工多能性幹細胞の可能性と課題，第15回 CCB カンファレンス(2007.8.30. 大阪)

山中伸弥：Update on iPS cell research, 京都大学再生医科学研究所，熊本大学発生医学研究センター，慶應義塾大学，CDB Joint Forum(2007.9.6. 神戸)

山中伸弥：人工多能性幹(iPS)細胞の現状と課題，第3回 Summer Vascular Conference(2007.9.8. 東京)

山中伸弥：人工多能性幹(iPS)細胞の可能性と課題，再生医療の実現化プロジェクト 第4回成果発表会(2007.9.9. 横浜)

Takahashi, K., Okita, K., Nakagawa, M., Aoi, T., Ichisaka, T., and Yamanaka, S. : Generation of high quality iPS cells, Neuro2007(第30回日本神経科学大会，第50回日本神経化学会大会，第17回日本神経回路学会大会 合同学会)(2007.9.12. 横浜)

山中伸弥：iPS細胞の現状と課題，第14回 BRM・サイトカイン学術講演会(2007.9.18. 名古屋)

山中伸弥：Induction of pluripotency by defined factors, 再生医療に関する京都大学再生医科学研究所国際シンポジウム(2007.9.19. 京都)

Yamanaka, S. : Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells, National Heart, Lung, and Blood Institute, Symposium on Cardiovascular Regenerative Medicine(2007.10.1. アメリカ)

Yamanaka, S. : Generation of pluripotency by tumor-related factors, 第66回日本癌学会学術総会(2007.10.5. 横浜)

Yamanaka, S. : Induction of pluripotency by defined factors. EMBO Conference Series, Advances in Stem Cell Research(2007.10.12. スウェーデン)

Yamanaka, S. : Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells, 名古屋大学大学院医学系研究科 第4回 21世紀 COE 国際シンポジウム(2007.10.26. 名古屋)

Yamanaka, S. : Induction of pluripotency by defined factors, 第21回国際哺乳類ゲノム会議(IMGC2007)(2007.10.29. 京都)

山中伸弥：人工万能細胞がつくる新しい医学，第25回大阪科学賞受賞記念講演会(2007.11.2. 大阪)

- 山中伸弥：人工多能性幹(iPS)細胞の可能性と課題，自治医科大学 大学院特別講義(2007.11.8, 栃木)
- Yamanaka, S.: Induction of pluripotency by defined factors, 第4回 OOTR カンファレンス(2007.11.10, 京都)
- 山中伸弥：人工多能性幹(iPS)細胞の可能性と課題，広島大学 第23回広島整形外科先端医学セミナー(2007.11.15, 広島)
- 山中伸弥：人工万能幹細胞の可能性と課題，大阪商工会議所 第8回次世代医療システム産業化フォーラム 2007 (2007.11.16, 京都)
- 山中伸弥：特定因子によるマウス体細胞の初期化，第5回クロマチン・フロンティアーズ・ジャパン(2007.11.19, 東京)
- 山中伸弥：万能細胞への熱き情熱，大阪弁護士会会派友新会 山中伸弥教授講演会(2007.11.20, 大阪)
- 山中伸弥：人工多能性幹(iPS)細胞の可能性と課題，大阪大学 第5回微研部員会主催セミナー(2007.11.21, 大阪)
- Yamanaka, S.: Generation of Germline-Competent Induced Pluripotent Stem Cells. Myenburg Cancer Research Award Symposium(2007.11.26, ドイツ)
- 山中伸弥：分化多能性の維持と誘導，奈良先端科学技術大学院大学 特別講演(2007.12.6, 奈良)
- 山中伸弥：人工多能性幹(iPS)細胞の可能性と課題，奈良先端科学技術大学院大学 GCOE セミナー(2007.12.6, 奈良)
- Yamanaka, S.: Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells from adult mouse somatic cells, BMB 2007(第30回日本分子生物学会年会 第80回日本生化学会大会 合同大会)シンポジウム(2007.12.11, 神奈川)
- 山中伸弥：ChIP-on-Chip および CGH アレイから見た人工多能性(iPS)細胞，BMB2007(第30回日本分子生物学会年会 第80回日本生化学会大会 合同大会)ランチョンセミナー(アジレント・テクノロジー株式会社)(2007.12.11, 神奈川)
- 山中伸弥：分化多能性と miRNA, BMB2007(第30回日本分子生物学会年会 第80回日本生化学会大会 合同大会)ランチョンセミナー(東レ株式会社)(2007.12.13, 神奈川)
- 山中伸弥：iPS 細胞の樹立，科学技術振興機構(JST)特別シンポジウム「多能性幹細胞研究のインパクトーiPS 細胞研究の今後ー」(2007.12.25, 京都)
- 高橋和利，山中伸弥：誘導多能性幹(iPS)細胞作成法の改良，第28回日本炎症・再生医学会(2007.8.3, 東京)
- Yae, K.: Analyses of retroviral integration in induced pluripotent stem(iPS)cells, Korean Society for Stem Cell Research, The 3rd Annual Meeting of the Korean Society for Stem Cell Research(2007.11.29, 韓国)
- 坪岡則子：ES 細胞における Zn フィンガータンパク質 Sall4 の機能解析，第5回クロマチン・フロンティアーズ・ジャパン(2007.11.19, 東京)



再生増殖制御学分野 Department of Growth Regulation

分野主任 教授 瀬原(藤沢)淳子
Prof. Atsuko Sehara (Fujisawa)

【研究概要】

我々の研究室は、哺乳類を中心に脊椎動物の形態形成機構、特に骨格筋や心臓などの器官形成の仕組みを研究している。最近はそのような研究を行う実験動物として、マウスやニワトリだけでなくゼブラフィッシュも飼い始めた。そこであらためて認識するのは、これらの成体動物の著しい形態的相違に対して、胎児期、特に体節形成期あたりの胚は互いに実によく似ているということである。これは、発生過程では形態的な「拘束」により遺伝的な変異が生じにくいために、脊椎動物が胚発生過程においてつくり出せる多様性には限界があるからだと考えられている。

脊椎動物のファイロティピック段階をゲノムの観点から捉える

このような個体発生と系統発生との関係を探る研究は 19 世紀のフォン＝ベアーに端を発す。『動物の胚発生は、初期ほどそれが属するより大きな動物群を代表する形質が現れる』という彼の主張は、単細胞の受精卵から卵割、左右相称性の獲得、器官形成と、次第に複雑化する胚発生の観察を元に構築され、一世紀あまりもの長年に渡って信じ続けられてきた。が 1990 年代に入って、卵割様式や原腸陥入など発生初期過程は種間でのバリエーションが大きいという観察などから、フォン＝ベアーの法則は発生中期以降のみ適応されと考えられるようになり、改良版として『砂時計モデル』が提唱され(図 1)、現在広く受け入れられている。砂時計のくびれの部分は、脊椎動物門に属する動物種の胚の形態が最も似る時期を示す。この段階は動物門(phyla)に特徴的(typical)な形態を示すという意味から、ファイロティピック段階と呼ばれ、強い「発生拘束」を受けている段階であると仮定されている。しかし、脊椎動物のファイロティピック段階は本当に存在するのか、存在するとすればそれは発生過程のどのステージで、またそのような発生拘束は何故生ずるのであろうか？

これまでこの問題は、形態の類似性とその形態形成に関与する遺伝子群に着目して研究されてきた。しかし形態の類似性は数値評価できないこと、解析できる遺伝子の数も限られることなどの限界がある。そこでこれらの限界を打破すべく、本研究室の入江直樹は、この「砂時計モデル」をゲノム情報を用いて数値評価しようと考えた。

生物の形態形成は、その遺伝子発現に基づいている。ある発生段階における脊椎動物の類似性は、その発生段階で脊椎動物に保存された遺伝子を発現することによって生ずると考えられる。そこで考案されたのが、Ancestor Index (AI) である。マウスの各発生ステージごとの EST データベースに現れる遺伝子を「発現遺伝子」と規定し、各発生ステージで発現している全遺伝子のうちの脊椎動物に保存された遺伝子の割合を「脊椎動物の Ancestor Index (AI)」として表せば、AI が高いステージほど祖先型の形質を多くもち、強い発生拘束を受けているステージといえるはずである。さらに、Gene Ontology データベースを用いて「発生関連遺伝子」を選び出し、「EST データベース上、各発生ステージで発現している発生関連遺伝子のうち、何割が脊椎動物に保存されたものであるか」という『発生関連遺伝子に関する Ancestor Index』も算出した。これによりマウス胚発生における発生拘束を評価したところ、全遺伝子を用いると、確かにマウス胎児には砂時計モデルのように初期と後期に比べて強い発生拘束を示す

発生中期があること、さらに発生関連遺伝子を用いることによって、それが「咽頭胚期」や体節形成初期にあたる胎生 8.5 日周辺であることが示された(図 2)。さらに、左右相称動物の AI から哺乳類の AI までを算出することにより、左右相称動物として拘束を受けるステージが、脊椎動物のそれより早い時期に出現することもわかってきた。この研究によって、ゲノムレベルで拘束を受ける発生ステージの存在が示された意義は大きい。さらに興味深いことに、これらの発生ステージにおいて発現する「脊椎動物に保存された遺伝子」には胎生致死を示すものが数多く見られ、発生拘束のメカニズムの解明におけるこの手法の有効性が示唆された。

Background

Embryos of taxonomically different vertebrates are thought to pass through a stage in which they resemble one another morphologically. This vertebrate phylotypic stage may represent the basic vertebrate body plan that was established in the common ancestor of vertebrates. However, since morphological studies have to compare many developmental events that appear temporarily different manners among species, much controversy remains about when the

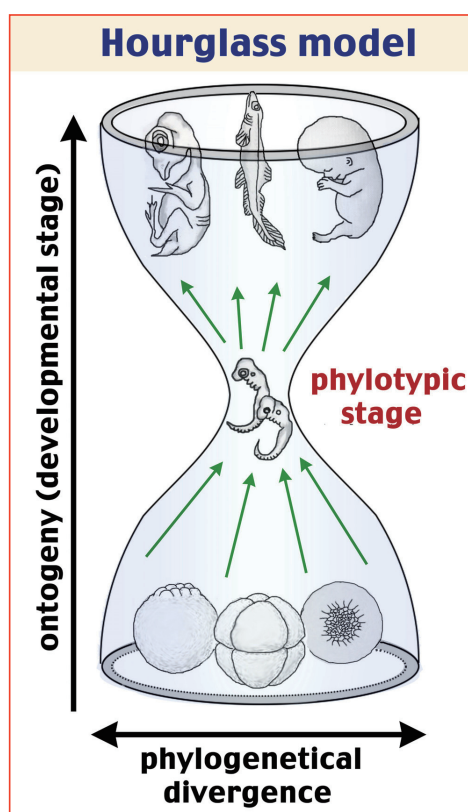


図 1 砂時計モデル：発生中期に拘束されたステージが存在する (Duboule 1994 より改変)

total gene (25613)

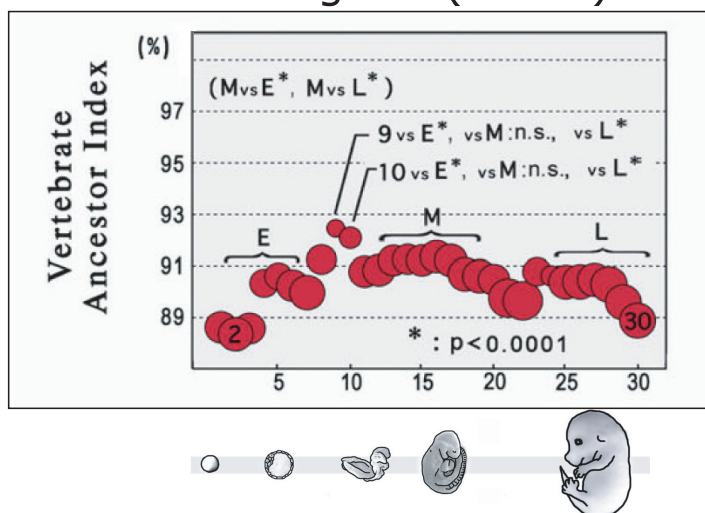


図 2-1 発生中期は初期及び後期より Ancestor Index が高い。

Developmental gene (1088)

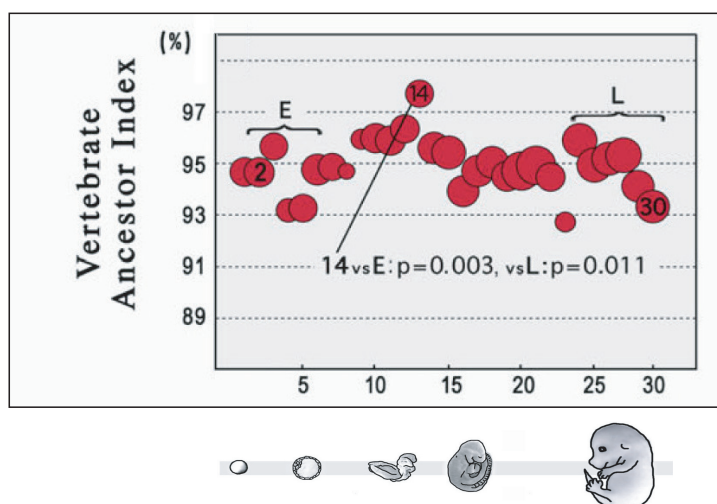


図 2-2 発生関連遺伝子では E8.0-8.5 日に最も Ancestor Index が高い

phylotypic stage appears and whether it even exists.

Results

Using expressed sequence tag (EST) data, Gene Ontologies (GO), and available genomes of various animals, here we have established a novel method of evaluating the ancestral nature of mouse embryonic stages with a numerical “Ancestor Index” that does not depend on comparative morphology. This index revealed that the mouse indeed has a conserved embryonic period that coincides with the concepts of the phylotypic stage, at embryonic day 8.0-8.5 (i.e. around the time of appearance of the pharyngeal arch and somites) which prominently expresses GO-determined developmental genes shared among vertebrates. Similar analyses revealed the existence of a bilaterian-related period which markedly express GO-determined developmental genes shared among bilaterians, at the cleavage-to-gastrulation period. Taking advantages of our method and Mouse Genome Informatics database, the nature of the phylotypic stage-associated genes identified were shown to be indispensable in embryogenesis.

Conclusions

Our results demonstrate that the vertebrate phylotypic stage can be defined genomically in the mouse mid-embryonic stage, and it is preceded by the putative basic bilaterian body plan. These results highlight the once questioned, hierarchical aspect of embryogenesis proposed by von Baer, albeit partially. Identification of conserved stages and tissues by this method in various animals would give clues to know what kind of developmental events and gene sets are evolutionarily constrained and how they limit the possible variations of animal basic body plans.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Irie, N., Sehara-Fujisawa, A.: The vertebrate phylotypic stage and an early bilaterian-related stage in mouse embryogenesis defined by genomic information. *BMC Biology*. 5 : 1 (2007)
- Yokozeki, T., Wakatsuki, S., Hatsuzawa, K., Black, R. A., Wada, I., Sehara-Fujisawa, A.: Meltrin β /ADAM19 Mediates Ectodomain Shedding of Neuregulin β 1 in the Golgi Apparatus : Fluorescence Correlation Spectroscopic Observation of the Dynamics of Ectodomain Shedding in Living Cells. *Genes to Cells*. 12(3) : 329-43 (2007)
- Dyczynska E, Sun D, Yi H, Sehara-Fujisawa A, Blobel CP, Zolkiewska A. : Proteolytic processing of delta-like 1 by ADAM proteases. *J Biol Chem*. 282(1) : 436-44 (2007)
- Tanabe, C., Hotoda, N., Sasagawa, N., Sehara-Fujisawa, A., Maruyama, K. & Ishiura, S. : ADAM19 is tightly associated with constitutive Alzheimer's disease APP α -secretase in A172 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 352 (1) : 111-7. (2007)
- Kouji Komatsu, Shuji Wakatsuki, Shu-ichi Yamada, Ken-ichi Yamamura, Jun-ichi Miyazaki, Pandelakis A Koni, Atsuko Sehara-Fujisawa. : Meltrin β expressed in cardiac neural crest cells is required for ventricular septum formation of the heart, *Developmental Biology*. 303(1) : 82-92 (2007).

2) 総 説

越前谷美智子, 瀬原淳子: メルトリン α 欠損マウスー脂肪細胞減少モデル, *The Lipid*. Vol.18 No.5 pp.4-9(2007)
 瀬原淳子: 形態形成における膜型 ADAM プロテアーゼの役割: エクトドメインシェディングの観点からの考察,
細胞工学. Vol.26 No.10 pp.1131-1135(2007)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

Koji Komatsu, Shuji Wakatsuki, Shu-ichi Yamada, Ken-ichi Yamamura, Jun-ichi Miyazaki, Pandelakis A. Koni, Atsuko Sebara-Fujisawa : Meltrin β expressed in cardiac neural crest cells is required for ventricular septum formation of the heart. UK-APDBN Joint Meeting on Development and the Emergence of Function in the Nervous System (2007.2.8. Hyogo)

Naoki Irie, Atsuko Sebara-Fujisawa : The vertebrate phylotypic stage and an early bilaterian related stage in mouse embryogenesis defined by genomic information. UK-APDBN Joint Meeting on Development and the Emergence of Function in the Nervous System(2007.2.8. Hyogo)

入江直樹, 瀬原淳子: 発生砂時計モデルは正しいのか? —マウス胚におけるファイロティピック段階と左右相称動物に関連した胚段階の同定—, 第 40 回日本発生生物学会・第 59 回日本細胞生物学会合同大会(2007.5.30, 福岡)

Atsuko Sebara-Fujisawa : Observation of ectodomain shedding of membrane-anchored growth factors in living cells, Gordon Research Conference -Matrix Metalloproteinases-(2007.6.3. Lucca, Italy)

飯田敦夫, 坂口泰子, 瀬原淳子, 濱口 哲, 古賀章彦: 体色突然変異を用いたメダカ toll 因子の自立的コピーの同定, 第 13 回小型魚類研究会(2007.9.16-17. 東京)

入江直樹, 瀬原淳子: 進化と胚発生の関係は? —発生砂時計モデルの検証—, BMB2007(第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会合同大会)(2007.12.11. 神奈川)

2) 講演・シンポジウム

瀬原淳子: 細胞たちの「自分探し」～臓器ができる仕組みを探る～, 楽しむ科学教室(招待講演)(2007.5.13. 東京)

瀬原淳子: 生きた細胞内でおこる膜型増殖因子の細胞外ドメイン切断を観察する, シンポジウム「タンパク質の凝集と分解の細胞生物学 Protein aggregation and proteolysis」(オーガナイザー: 小椋光, 山本健二)第 40 回日本発生生物学会・第 59 回日本細胞生物学会合同大会(招待講演)(2007.5.28. 福岡)

Kouji Komatsu, Shuji Wakatsuki, Norihiro Yumoto, Shu-ichi Yamada, Ken-ichi Yamamura, Jun-ichi Miyazaki, Pandelakis A. Koni, Atsuko Sebara-Fujisawa : Meltrin β expressed in cardiac neural crest cells is required for ventricular septum formation of the heart, 21 世紀 COE プログラム「融合的移植再生治療を目指す国際拠点形成」平成 19 年度国際シンポジウム「Integration of Transplantation Therapy and Regenerative Medicine」(2007. 6. 29-30. Kyoto)

Atsuko Sebara-Fujisawa : Roles of ADAM proteases in development of cardiovascular system, 再生医療に関する京都大学再生医科学研究所国際シンポジウム(2007.9.19-20. Kyoto)

Irie N, Sebara-Fujisawa A. : The vertebrate phylotypic stage and an early bilaterian-related stage in mouse embryo-

genesis defined by genomic information., 再生医療に関する京都大学再生医科学研究所国際シンポジウム (2007.9.19-20, Kyoto)

湯本法弘, 若月修二, 木村祐介, 瀬原淳子: 神経筋シナプス形成における膜型プロテアーゼメルトリン β (ADAM19) の役割, 独立行政法人科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業研究領域「生物の発生・分化・再生」第6回公開シンポジウム (2007.11.20, 東京)

瀬原淳子: 細胞たちの「自分探し」—臓器が出来る仕組みを探る—, 楽しむ科学教室(招待講演) (2007.12.8, 鳥取)

瀬原淳子: Roles of ADAM Proteases in heart development., International Symposium 「Molecular Mechanisms of Heart Development 心臓発生の分子機序」(招待講演) (2007.12.10, 東京)

瀬原淳子: Roles of ADAM proteases in Development of Cardiovascular System, シンポジウム「形態・器官形成機構を探る」(オーガナイザー: 栗原裕基, 瀬原淳子), BMB2007(第30回日本分子生物学会年会・第80回日本生化学会大会合同大会) (2007.12.12, 神奈川)

再生免疫学分野 Department of Immunology

准教授 喜納 辰夫
Assoc. Prof. Tatsuo Kina

【研究概要】

本研究分野では現在, (1)X線照射およびアルキル化試薬 ENU による胸腺リンパ腫発症機構の解析および(2)アレルギー自然発症モデル BALB/c.CD45.1 コンジェニック・マウスにおけるアレルギー発症機構を主なテーマとして研究を行っている。

1. X線照射およびアルキル化試薬 ENU による胸腺リンパ腫発症と TCR β 鎖分子の関連

胸腺は, 放射線に対して感受性の高い臓器である。マウスへの低線量照射でも, その胸腺は著しく萎縮する。萎縮した胸腺では, 残存した胸腺細胞の活発な分化・増殖がおこり, 臓器として再生する。しかし再生過程において, 高頻度で異常(胸腺リンパ腫)が生じてくる。これまでに, X線照射及びアルキル化試薬 ENU 処理により誘導した胸腺リンパ腫を材料にして, TCR β 鎖遺伝子座の構造を解析した。ENU は, 主として DNA 中の塩基グアニンをアデニンに置換する突然変異誘発剤であることが知られている。その結果, X線照射誘発胸腺リンパ腫においては, TCR β 鎖 V to DJ 再構成が亢進していることを明らかにした。今年度はさらに, 2種類の胸腺リンパ腫の TCR β 鎖遺伝子に関して, 組替えられた V, DJ について詳しく解析した(図 A)。23個ある V セグメントが均等に使われるのならば, その頻度は 4.3% であるが, V セグメントの使用頻度は均等ではなく, X線照射誘発胸腺リンパ腫においては, V6 と上流に位置する V2, V1 の再構成頻度が高かった。TCR 遺伝子の場合, 再構成してもアミノ酸の読み取り枠が正しく繋がらないと細胞表面に発現することができない。興味深いことに, 再構成された V6 は実際に発現しているものが多いのに対し, 上流域の V は発現していないものが多数であった。一方, ENU 誘発胸腺リン

V gene segment usage

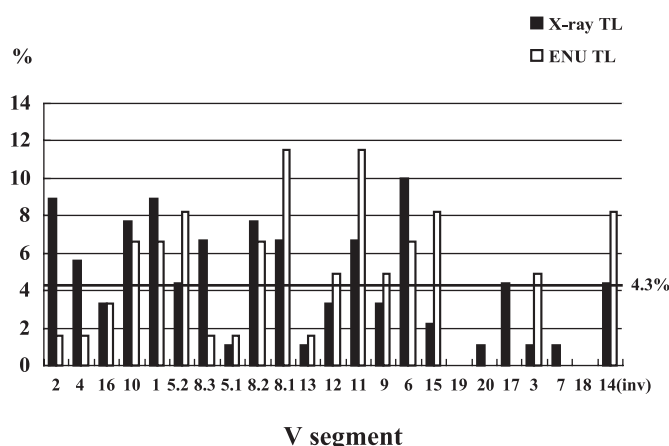


図 A X線照射誘発胸腺リンパ腫(X-ray TL)、ENU 誘発胸腺リンパ腫(ENU TL)のTCR β 鎖遺伝子における V セグメント使用頻度。23個ある V セグメントが均等に使われるのならば、その頻度は 4.3% である。X-ray TL で最も多く見出された V6DJ (9)の中で、読み取り枠が正しく繋がったもの(in-frame)は 6, 正しく繋がらなかったもの(out-of-frame)は 3 であった。V2DJ (8), V1DJ (8)ではそれぞれ, in-frame; 2, 3, out-of-frame; 6, 5 であった。一方, ENU TL で最も多く見出された V8.1DJ (7), V11DJ (7)の中で, in-frame, out-of-frame のものはそれぞれ 6, 1 であった。

パ腫においては, V6 ではなく V8.1, V11 の使用頻度が高く, 大多数において読み取り枠が正しく繋がっていた。以上のことから, 胸腺リンパ腫発症が特定の V を有する TCR β 鎖分子と関連していることが示唆される。また, リンパ腫誘発源が異なれば, 関連している TCR β 鎖分子も異なると考えられる。今後は, 胸腺リンパ腫発症=再生異常に特定の TCR β 鎖分子がどのように係わったかを明らかにしていく予定である。

2. BALB/c.CD45.1 コンジェニック・マウスにおける免疫異常とその分子機構

造血系細胞表面に発現される膜タンパク質である CD45(Ly5)は, リン酸化チロシン特異的な脱リン酸化(PTP)活性を有し, 特にリンパ球活性化において正や負の調節因子として重要であることが報告されている。近年, ヒトにおいて, CD45 の細胞外ドメインの変異あるいは部分的欠失が免疫不全症や多発性硬化症, 細菌感染などを引き起こす原因となっている例が報告され, CD45 がいろいろな病気の発症に関係していることが示唆されている。本研究分野で樹立した BALB/c.CD45.1 マウスは, CD45 分子に関して, 通常の BALB/c マウス(Ly5.2)と比較して, CD45 分子の細胞外ドメインの 5 個のアミノ酸配列が変異しているが, 生後半年以降に高頻度で頭や背中皮膚炎, アレルギー性結膜炎や中耳炎を発症する。これらの症状は, SPF 環境下では発症しないことから, 環境因子による刺激が発症に関連していることが考えられた。BALB/c.CD45.1 マウスにおける免疫異常は血中の Th2 サイトカインや IgE の上昇と時期を一致しており, 細胞レベルでは, リンパ節における CD69 陽性 B 細胞数の増加とこれらの B 細胞における Jak3 および Stat6 のチロシンリン酸化の亢進が原因と考えられる。これらの結果は, CD45.1 マウスが持つ CD45 分子(CD45.1)が, CD45.2 マウスの持つ CD45.2 分子と比較して, PTP 活性が低下している, もしくは低下しやすいことを示唆していると考えられた。この点について解析を行ったところ, CD45.1 マウスの B 細胞は年齢とともに PTP 活性が CD45.2

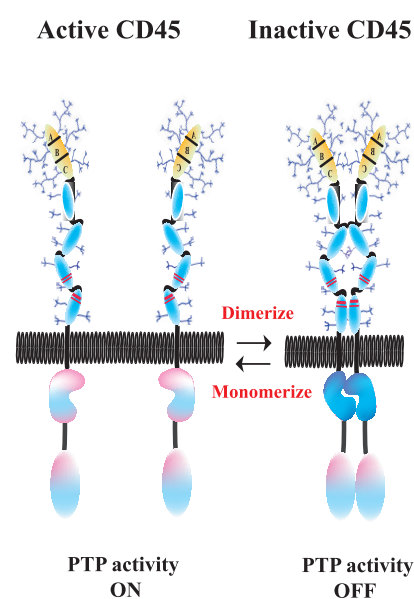


図 B CD45 の PTP 活性調節機構 (Wedge model)

マウスに較べて有意に低下していることが示された。また、CD45.1 および CD45.2 マウスの B 細胞表面 CD45 分子を抗 CD45 抗体で架橋すると、CD45 分子の PTP 活性が顕著に低下することから、細胞表面 CD45 分子のダイマー形成が CD45 分子そのものの PTP 活性低下の原因になっている可能性が示された(図 B)。さらに、抗 CD45 抗体を直接マウスに投与することにより、抗原刺激に対する IgE 抗体産生が増強されることから、生体内においても、CD45 分子の架橋が免疫異常の発症の原因となっていると考えられる。今後、この現象の分子機構をさらに解明していくと共に、BALB/c.CD45.1 マウスを用いて、種々のアレルギーや炎症の治療モデルを開発したい。

Our research effort focuses on two major areas. (1)Molecular mechanism of thymic lymphomagenesis in C57BL/6 mice induced by sub-lethal doses of X-ray or alkylating agent ENU. (2)Molecular and cellular mechanisms of inflammatory diseases of BALB/c.CD45.1 congenic mice.

1. Relationship between thymic lymphomagenesis induced by X-ray irradiation or an alkylating agent ENU and TCR β chain

Thymus is highly sensitive to ionizing radiation. Even low-dose irradiation causes atrophy of murine thymus. Normally, intensive proliferation and differentiation of thymocytes quickly regenerate the thymus. However, thymic lymphomas are often observed during regeneration. We have analyzed TCR β chain gene loci in X-ray irradiation or an alkylating agent ENU-induced thymic lymphomas(X-ray TLs or ENU TLs, respectively).ENU is well known to create mainly the G to A transition in DNA. One of our results is that more TCR β genes underwent rearrangement in X-ray TLs. This year, we have further examined the usage of TCR β genes V and DJ segments for recombination in two series of thymic lymphomas(Fig. A).We show that 23 V gene segments were unevenly detected in rearranged VDJ constructs in the tumors. V6, and upstream V2 and V1 were most frequently detected from X-ray TLs. Only in-frame rearrangement can produce TCR β molecules. Interestingly, in-frame constructs were major for V6DJ but not for V2DJ and V1DJ. On the other hand, V8.1 and V11, but not V6, were dominantly selected for V to DJ rearrangement in ENU TLs, and most of V8.1DJ and V11DJ constructs were in-frame. These data suggest that thymic lymphomagenesis correlates with specific TCR β chains. Also, different carcinogens may associate with different sets of TCR β molecules. As a next step, we are analyzing the molecular mechanisms connecting lymphomagenesis and specific sets of TCR β chains

2. Molecular and cellular mechanisms of immune disorders in BALB/c.CD45.1 congenic mice

The transmembrane protein CD45 (Ly5) is a leukocyte-specific molecule which carries phosphotyrosine-specific phosphatase (PTP) activity. CD45 plays critical roles in the regulation of T and B lymphocyte functions in both positive and negative fashions. In humans, it has recently been shown that minor mutations or deletions in the extracellular domain of CD45 resulted in severe combined immunodeficiency, multiple sclerosis or infectious diseases, suggesting that CD45 is involved in various aspects of human diseases. The BALB/c.CD45.1 congenic mice, which we have recently established in our laboratory, carry the CD45.1 allotype of murine CD45 locus and show only five amino-acid substitutions in the extracellular domain of CD45 as compared to normal BALB/c (CD45.2) strain. Interestingly, these congenic mice frequently developed various inflammatory diseases often observed in aged human patients, such as atopic dermatitis, conjunctivitis and tympanitis. These diseases were not observed in mice bred under the specific pathogen-free conditions, indicating that environmental antigens are involved in the induction of these inflammatory diseases. The

occurrence of these diseases coincide with the elevation of serum Th2 cytokines and IgE levels and the increased number of activated B cells in lymph nodes of CD45.1 mice. Biochemical analysis indicated that Jak3 and Stat6 molecules in these B cells are highly phosphorylated and the expression of activation-induced cytidine deaminase (AID) and germline Ig γ transcripts is significantly augmented in those B cells. We also found that CD45 PTP activity of CD45.1 mice decreased age-dependently and cross-linking of cell surface CD45 molecules with anti-CD45 antibody resulted in the decreased PTP activity in B cells, suggesting that the cross-linking of cell surface CD45 molecules is a possible cause of lower PTP activity of B cells in CD45.1 mice. Based on these findings, we propose a model(Wedge model)for the regulation of PTP activity of CD45 in Fig.B. We think that these congenic mice provide a unique model for investigating the mechanisms of various disorders found in human patients with CD45 mutations.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

- Fujimoto, S., Ikawa, T., Kina, T., and Yokota, Y. : Forced expression of Id2 in fetal thymic T cell progenitors allows some of their progeny to adopt NK cell fate. *Int. Immunol.* **19** : 1175-1182 (2007)
- Kim, J-Y., Kina, T., Iwanaga, Y., Noguchi, H., Matsumura, K., Hyon, S-H. : Tea polyphenol inhibits allostimulation in mixed lymphocyte culture. *Cell Transplant.* **16** : 75-83 (2007)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会

- 藤本真慈, 柿沼志津子, 喜納辰夫, 島田義也 : TCR β 鎖遺伝子 D to J rearrangement における J segment usage の偏り. 第 17 回 Kyoto T Cell Conference 学術集会 (2007.6.15-16. 京都)
- FUJIMOTO Shinji, KINA Tatsuo, YOKOTA Yoshifumi : A single cell assay reveals cell fate change of fetal thymic p-T to p-NK by forced expression of Id2. *International Symposium on Regenerative Medical Therapy* (2007.9.19-20. Kyoto)
- FUJIMOTO Shinji, IKAWA Tomokatsu, KINA Tatsuo, YOKOTA Yoshifumi : Forced expression of Id2 in fetal thymic progenitors allows some of their progeny to adopt NK cell fate. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 (2007.11.20-22. 東京)
- 藤本真慈, 柿沼志津子, 喜納辰夫, 島田義也 : X 線照射により誘導したマウス胸腺リンパ腫における TCR β gene V to DJ rearrangement は亢進している. 第 30 回日本分子生物学会年会 (2007.12.11-15. 横浜)
- 瀬海美穂, 喜納辰夫, 生田宏一 : 転写因子 IRF によるストローマ細胞の IL-7 産生機構. 第 17 回 Kyoto T Cell Conference 学術集会 (2007.6.15-16. 京都)
- SEKAI Miho, KINA Tatsuo, IKUTA Koichi : Production of IL-7 by lymphocyte-stromal cell crosstalk. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 (2007.11.20-22. 東京)

再生医学応用研究部門

生体修復応用分野 Department of Biological Repair

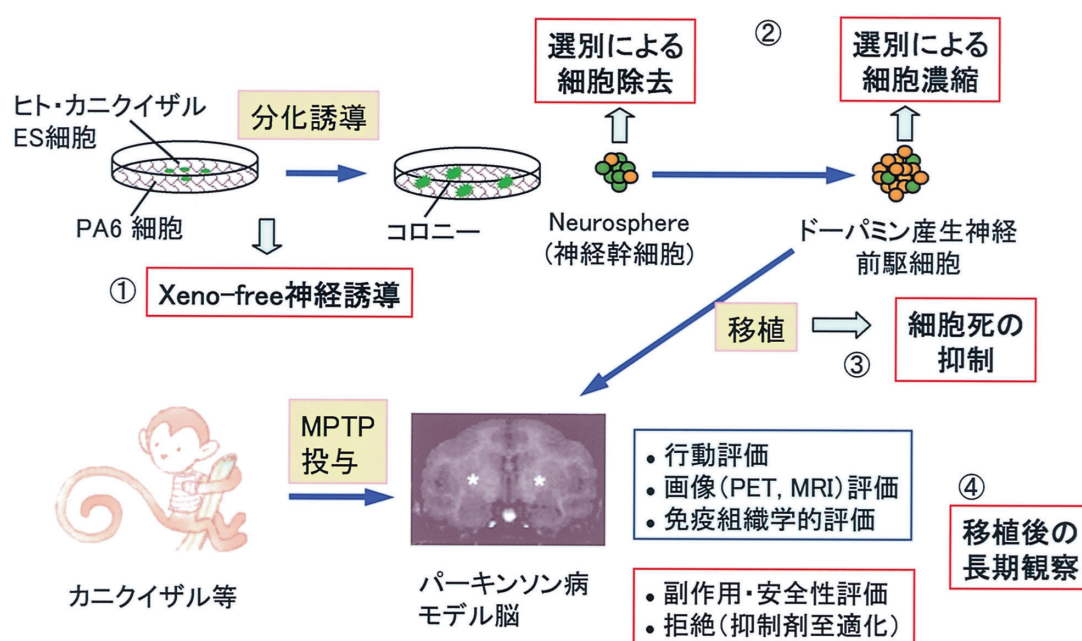
分野主任 准教授 高橋 淳

Assoc. Prof. Jun Takahashi

【研究概要】

我々は、幹細胞とくに胚性幹細胞(ES細胞)を用いた神経難病治療法開発を目指している。なかでも、胎児黒質細胞移植によって臨床経験が蓄積されているパーキンソン病を主な対象疾患として、ES細胞からのドーパミン産生ニューロンの誘導、細胞移植による神経症状の改善に関する研究を行っている。ES細胞を用いた細胞移植療法においては、効果的な神経誘導、腫瘍形成抑制のための細胞選別、移植時における細胞死抑制、移植後の免疫抑制、長期の効果と安全性確認など検討すべき点が多々あり、現在はこれらをひとつひとつ解決している(図)。将来的には、細胞移植や脳深部刺激療法などを含めた総合的な神経難病治療に繋がたいと考えている。

2007年は、ROCK阻害薬によってES細胞およびES細胞由来神経幹細胞の細胞分散時の細胞死が抑制されることを明らかにした。この成果はES細胞からのヒトES細胞の維持培養および移植時の細胞死抑制にとって有用である。また、胎生期髄膜もES細胞からのドーパミン産生神経誘導能を有することを明らかにし、さらにPA6細胞との比較から特にWnt5aの働きが重要であることを明らかにした。この成果は動物由来因子を用いない神経分化誘導に寄与する。また、細胞移植後の宿主脳の炎症・免疫反応に注目し、これらの反応が移植細胞の神経分化を抑制していることを明らかにした。特にIL-6の関与が示唆され、因子特異的な宿主脳環境制御により移植効果の上昇が得られる可能性を示している。



We are developing a cell replacement therapy for the neurological disorders by using stem cells, especially embryonic stem cells (ES cells). The main target is Parkinson's disease, and our research focuses on induction of dopaminergic (DA) neurons from ES cells and transplantation of the cells into the brain to improve neurological symptoms. So far, we have revealed the optimal differentional stage for an efficient survival of the grafted DA neurons, and also a method to prevent tumor formation. In addition, we have demonstrated that transplantation of monkey ES cell-derived neurons improved the Parkinsonian symptoms of the monkey models.

In 2007, we have reported that cell death after dissociation of ES cells or ES cell-derived neural precursor cells (NPCs) can be reduced by the treatment with ROCK inhibitor. These results are useful for the efficient culture of human ES cells, and also for reducing cell death after cell transplantation. We have also revealed that meningeal cells can be used as feeders to induce DA neurons from ES cells, and that Wnt-5a plays an important role in the stromal cell-derived inducing activity (SDIA). We hope that further investigation of the molecular mechanism of SDIA will lead to DA neuron induction using defined factors. In addition, we have demonstrated that host-derived leukocytes, including microglia, macrophages, and lymphocytes, accumulate around the grafts of mouse ES cell-derived NPCs in host mouse brains, and that they suppressed neuronal differentiation of the grafted NPCs. As it is suggested that IL-6 is involved in this suppression, effective neuronal differentiation should be possible by reducing the exposure of NPCs in the brain to pro-inflammatory cytokines, especially IL-6.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Watanabe, K., Ueno, M., Kamiya, D., Nishiyama, A., Matsumura, M., Wataya, T., Takahashi, J., Nishikawa, S., Nishikawa, S-I., Muguruma, K., Sasai, Y. : A ROCK inhibitor permits survival of dissociated human embryonic stem cells. *Nat Biotech* 25 : 681-686 (2007)
- Ono, Y., Nakatani, T., Sakamoto, Y., Mizuhara, E., Minaki, Y., Kumai, M., Hamaguchi, A., Nishimura, M., Inoue, Y., Hayashi, H., Takahashi, J., Imai, T. : Differences in neurogenic potential in floor plate cells along an antero-posterior location : midbrain dopaminergic neurons originate from mesencephalic floor plate cells. *Development* 134(17) : 3213-3225 (2007)
- Koyanagi, M., Takahashi, J., Arakawa, Y., Doi, D., Fukuda, H., Hayashi, H., Narumiya, S., Hashimoto, N. : Inhibition of the Rho/ROCK pathway reduces apoptosis during transplantation of embryonic stem cell-derived neural precursors. *J Neurosci Res*, in press
- Hayashi, H., Morizane, A., Koyanagi, M., Ono, Y., Sasai, Y., Hashimoto, N., Takahashi, J. : Meningeal cells induce dopaminergic neurons from embryonic stem cells. *Eur J Neurosci*, in press
- Ideguchi, M., Shinoyama, M., Gomi, M., Hayashi, H., Hashimoto, N., Takahashi, J. : Immune or inflammatory response by the host brain suppresses neuronal differentiation of transplanted ES cell-derived neural precursor cells. *J Neurosci Res*, in press

2) 著 書

Takahashi, J., Morizane, A: Embryonic stem cell-derived neurons and astrocytes. Neuroscapes: Book in honour of Santiago Ramon y Cajal. DeFelipe, J., Markram, H., Wagensberg, J. Spanish National Research Council, Madrid, Spain, 226-227, 309 (2007)

3) 総 説

Takahashi, J. Stem cell therapy for Parkinson's disease. Expert Rev Neurother 7: 667-675 (2007)

高橋 淳: ES 細胞移植による Parkinson 病治療. 医学のあゆみ 220(2): 159-164 (2007)

高橋 淳: ES 細胞を利用したパーキンソン病治療法の開発. 治療 89(6): 2136-2141 (2007)

高橋 淳: ES 細胞を利用したパーキンソン病の治療. 再生医療 6(3): 44-51 (2007)

高橋 淳: ES 細胞移植によるパーキンソン病治療法の開発. 脳神経外科 35(9): 935-943 (2007)

高橋 淳: ES 細胞を用いた神経再生医療. 麻酔 56 増刊: S29-S38 (2007)

高橋 淳, 中辻憲夫: ヒト ES 細胞を取り巻く状況: 総論. メディカル・サイエンス・ダイジェスト 33(14): 6-8 (2007)

林 英樹, 高橋 淳: ヒト ES 細胞を用いた神経系の再生医療. メディカル・サイエンス・ダイジェスト 33(14): 29-32 (2007)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

林 英樹: SDIA における PA6 の Conditioned Medium の働き. 第 66 回日本脳神経外科学会総会 (2007.10.3-5. 東京)

Hayashi, H., Doi, D., Gomi, M., Takahashi, J.: The roles of extracellular matrices and secreting factors of PA6 in stromal cell-derived inducing activity. Annual Meeting of Society for Neuroscience. (2007.11.4. San Diego)

土井大輔: ES 細胞を用いた細胞移植治療におけるドーパミン神経細胞の純化方法の検討. 第 66 回日本脳神経外科学会総会 (2007.10.3-5. 東京)

Saiki, H., Takahashi, J., Hashimoto, N.: An objective observation of declining motor function of spontaneous behavior and picking up movement in the course of MPTP treating of cynomolgus monkeys. Annual Meeting of Society for Neuroscience. (2007.11.4. San Diego)

2) 講演・シンポジウム

高橋 淳: 脳深部刺激療法 (DBS) について. 京丹後・舞鶴地区脳深部刺激療法 (DBS) 座談会 (2007.2.1. 舞鶴)

高橋 淳: パーキンソン病に対するニューロモデュレーション. 第 15 回日本神経学会近畿地区生涯教育講演会 (2007.2.11. 京都)

高橋 淳: ES 細胞を用いたパーキンソン病治療開発. 平成 18 年度 政策創薬総合研究成果等普及啓発事業 臨床心血管再生研究会 (2007.2.17. 京都)

高橋 淳: パーキンソン病に対するニューロモデュレーション. 第 11 回京都内科神経懇話会 (2007.3.3. 京都)

高橋 淳: ES 細胞を用いたパーキンソン病治療開発. 第 5 回京大臨床心血管再生研究会シンポジウム (2007.3.6.

京都)

高橋 淳：ES 細胞移植によるパーキンソン病治療法の開発，第 6 回日本再生医療学会総会(2007.3.13-14，横浜)

高橋 淳：ES 細胞移植によるパーキンソン病治療法の開発，第 27 回日本医学会総会(2007.4.6-8，大阪)

高橋 淳：ES 細胞利用によるパーキンソン病治療法の開発，第 22 回神経組織の成長・再生・移植研究会(2007.5.25-26，岡山)

高橋 淳：ES 細胞を用いた神経再生医療，第 54 回日本麻酔科学会学術集会(2007.5.31-6.2，札幌)

Takahashi, J.: ES cell transplantation for the treatment of Parkinson's disease. Kyoto University 21st Century COE Symposium, Integration of Transplantation Therapy and Regenerative Medicine(2007.6.29-30，Kyoto)

Takahashi, J.: Graft's behavior and host response in cell transplantation. Nobel Conference on "Development and Engineering of Dopamine Neurons : From Genes to Therapy"(2007.8.30-9.1，Stockholm)

Takahashi, J.: ES cell transplantation for the treatment of Parkinson's disease. Joint Forum(2007.9.5-6，Kobe)

Takahashi, J.: ES cell transplantation for the treatment of Parkinson's disease. BioKorea 2007(2007.9.12-14，Seoul)

高橋 淳：ES 細胞を利用した神経再生，第 28 回滋賀神経疾患研究会学術研修会(2007.10.27，草津)

高橋 淳：再生医療における分子イメージングの有用性，PET 科学アカデミーセミナー(2007.11.21，神戸)

Takahashi, J.: In vivo functional studies in primates. Cold Spring Harbor Conference on Cell Transplantation as a Therapy for Parkinson's disease(2007.12.9-12，New York)

高橋 淳：ES 細胞移植によるパーキンソン病治療の開発，京都大学再生医科学研究所平成 19 年度学術講演会(2007.12.26，京都)



組織再生応用分野 Department of Tissue Regeneration

分野主任 教授 戸口田 淳也

Prof. Junya Toguchida

【研究概要】

本研究分野の目標は間葉系組織の増殖分化機構を理解し，その成果にもとづいて，間葉系組織の臨床病態に対する新規治療法を開発することである。以下のテーマについて現在研究を遂行している。

1. 間葉系幹細胞の増殖及び分化制御機構の解明

骨髄間質細胞中には，間葉系組織の様々な細胞に分化可能な組織幹細胞である間葉系幹細胞(mesenchymal stem cell, MSC)が存在しているとされている。しかし MSC の本態に関しては未解明な点が多く，MSC を用いた間葉系組織の再生医療を科学的根拠に基づいた医療とするためには，その理解が必須である。我々は京都大学医学部整形外科教室との共同研究として，MSC の初代培養を行い，増殖及び分化能に関する解析を行っている。これまで培養初期における平均テロメア長により最終倍加数を予測できること，p16 遺伝子の発現が短期的な増殖能を反映することを見出した。これらは臨床応用の際に増殖能の評価する上で有意義な情報を与えるものである。分化能

の評価に関しては、我々が樹立した不死化 MSC クローンを用いてアプローチし、CD106 陽性細胞の割合が骨分化能と負の、脂肪分化能と正の相関をもつことを見出し、事前に分化能を評価することができることを報告した。これらの結果は、現在一括りに取り扱われている MSC が増殖・分化能において多様な細胞の集団であることを実証するものであり、詳細な解析への鍵となるものと考えている。

2. 間葉系幹細胞の癌化監視機構の開発

癌の起源細胞が各組織に存在する組織幹細胞であることを示す報告が相次いでおり、MSC の場合、間葉系組織由来の腫瘍、すなわち肉腫の起源細胞になりうる。実際マウスのみならずヒト MSC も特に低密度培養法により、細胞増殖を刺激する方法で培養を行った場合、染色体異常が発生することが示されており、MSC を用いた間葉系組織の再生医療の遂行に当たって無視できない状況になっている。我々は培養過程における癌化の初期変化としての p16 遺伝子のメチル化に注目し、その変異を定量的に解析する方法を開発し、実際に p16 遺伝子のメチル化が培養過程で発生し、それにより細胞の増殖能が亢進する場合があることを報告した。他の遺伝子変異解析を含めて、MSC の癌化監視機構の確立が最終目標である。

3. MSC を用いた骨壊死病態に対する新規治療法の臨床応用

MSC を用いた再生医療の具体例として、骨壊死病態に対する細胞移植治療法の開発に取り組んでいる。まず基礎的実験として、イヌを用いて月状骨無腐性壊死モデルを作成し、自家 MSC を人工骨材料と混合した上で壊死部に充填した。その結果、MSC 移植により、圧潰することなく十分な強度をもった月状骨が再生されることを報告した。この結果をもとに京都大学医学部附属病院内の分子細胞治療センターを使用する臨床治験を平成 18 年 9 月 1 日に施行された「ヒト幹細胞を用いた臨床研究に関する指針」に基づいた臨床研究として京都大学医学部医の倫

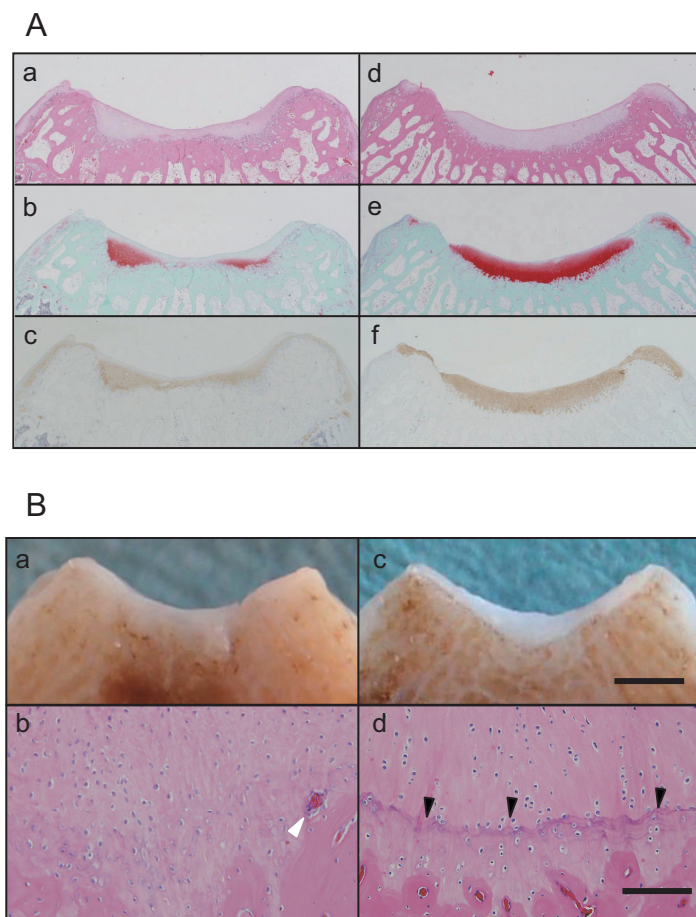


図 1. EP2 アゴニストを用いた関節軟骨修復。

- A. 関節軟骨損傷モデル作成後、12 週間における修復組織像。対象群(a, b, 及び c)に比べて治療群(d, e, 及び f)において軟骨組織による修復が促進されている。a 及び d, HE 染色; b 及び e, サフラニン O 染色; c 及び f, II 型コラーゲン染色。
- B. 骨軟骨損傷モデル作成後、12 週間における骨軟骨境界領域の修復像。対象群(a 及び b)では、肉眼所見(a)及び HE 染色組織所見(b)でも骨軟骨の境界は不明瞭であるが、治療群(c 及び d)では肉眼所見(c)でも明瞭であり、HE 染色組織所見(b)でも矢印に示す tide mark の形成が明瞭であった。
- Figure 1. Regeneration of articular cartilage tissue by EP2 agonist.
- A. Regenerated tissue at 12 weeks after the construction of articular cartilage injury. Regeneration of cartilage tissue was enhanced in an EP2 agonist-treated sample (d, e, and f) compared with those in a control sample (a, b, and c). a and d, HE staining; b and e, Safranin-O staining; c and f, immunostaining of type II collagen.
- B. Regenerated tissue in osteochondral boundary 12 weeks after the construction of osteochondral injury. The osteochondral boundary in control sample (a and b) was not clear both in macroscopic (a) and microscopic HE finding (b), whereas those in EP2-treated sample was clear in macroscopic finding (c), and the formation of tide mark indicated by arrowhead was evident in microscopic finding (d).

理委員会及び厚生労働大臣諮問委員会に申請し、平成 19 年 11 月 25 日最終の承認を受け、12 月 5 日に第一例の治療を開始した。2 年間で 20 例の治療を行う予定である。

4. 関節軟骨再生に対するプロスタノイド受容体作動性物質の応用

細胞を用いた再生医療と同時に、薬剤等による *in situ* での組織再生の探求も重要な課題である。我々は生理活性物質であるプロスタグランディン E2 (PGE2) に注目し、その関節軟骨病態への応用を検討してきた。マウス及びヒト軟骨細胞を用いた *in vitro* 実験で、4 種類の PGE2 受容体の中の EP2 受容体に特異的に作用するアゴニストにより、軟骨細胞の増殖が促進されることを報告し、この知見に基づき、家兎を用いた *in vivo* 治療実験を行った。その結果、EP2 アゴニストにより関節軟骨の修復が促進され、かつ正常な骨軟骨境界構造が構築され、長期に渡り関節構造が維持されることを見出した(図 1)。この成果は、EP2 アゴニストの治療剤としての臨床応用の可能性を強く示唆するものである。

(文責 戸口田淳也)

The major objects of our department are to understand the basic biology of growth and differentiation of mesenchymal tissues and to develop new therapeutic modalities for pathological conditions in mesenchymal tissues. Following projects are currently undertaken.

1. Regulation of growth and differentiation potential of mesenchymal stem cells

Mesenchymal stem cells (MSC), which exist in bone marrow stromal tissues, have a potential to differentiate to cells of various types in mesenchymal tissues. There are, however, still many fundamental features of MSC are unknown, which are crucial for the development of regeneration therapy using MSC as the evidence based medicine. In collaboration with the Department of Orthopaedic Surgery in Kyoto University Hospital, we have analyzed the growth and differentiation potential of primary human MSCs. As for the growth potential, we have found that the level of p16 gene expression can predict the short-term growth potential, and the average length of telomere at the early passage can predict the number of final population doubling. These finding will provide a useful information for the evaluation of growth potential in the clinical application. To analyze the differentiation potential, we used immortalized MSC clones which we have established, and found that fraction of CD106 positive cells in early passage correlated positively with the adipogenic and negatively with osteogenic potential, indicating that the evaluation of CD106 expression is useful to predict the differentiation potential of MSC. These findings indicated that MSC which have been analyzed as a whole are a group pf heterogeneous cells which has different potential of growth and differentiation, and provide a key to understand the basic biology of MSC.

2. Establishment of surveillance system for transformation of MSC

Cancer cells are now considered to be derived from tissue stem cells resided in each tissue, and therefore MSCs are potentially progenitors of malignant tumors developed in the mesenchymal tissues, sarcomas. Several reports showed that the chromosomal aberrations may take place during the culture of mouse and also human MSC, especially when cells were seeded and cultured in low density condition to stimulate growth. This issue should be seriously considered to promote the regenerative medicine in mesenchymal tissues using MSC. As one of important initial mutations, we have focused on the methylation of the p16 gene, and established the method to detect the methylation quantitatively. Using this method, we have found that the methylation of the p16 gene did take place during the *in vitro* culture of MSC elongating the *in vitro* life. With additional analyses of other type of mutations, our

final goal is to establish the transformation surveillance system of MSC.

3. Clinical trial of the new treatment for osteonecrosis using MSC.

As the clinical application of MSC, we have engaged in the development of cell transplantation therapy for osteonecrosis. As the basic experiments, we have established dog models of avascular necrosis of lunate bone (Kienbeck disease), and treated them with MSC in combination with artificial bone materials. The MSC transplantation regenerated the lunate bone with strong enough to show no collapse. Based on these results, we submitted the clinical trial protocol in collaboration with Center for Cellular and Molecular Therapy in Kyoto University Hospital, which followed the guideline for the clinical trial using somatic stem cells issued by the the Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW) on September 1, 2006. After the examination of ethical committee of Kyoto University and MHLW, our protocol was approved on November 25, 2007, and we have started the first case on December 5, 2007. Twenty cases will be treated during two years.

4. Application of agonist for the PGE2 receptors for the articular cartilage repair

In addition to the development of cell therapy, it is also important to develop the in situ treatment using drugs or small molecular materials. We have focused on prostaglandin E2, which is one of physiological active materials, and investigated the application of PGE2 to the regeneration therapy of articular cartilage. We have reported that the agonist specific to EP2, which is one of four types of PGE2 receptor, stimulated the growth of mouse and human chondrocytes extracted from articular cartilage. Based on these results, we have performed the in vivo experiments using rabbits, and found that in combination with appropriate DDS, EP2 agonist enhanced the cartilage regeneration in vivo, and also contributed to reconstruct the osteo-chondral boundary, which is important factor to maintain normal structure of articular cartilage. These data strongly suggested that EP2 agonist is a promising candidate for clinical trial as therapeutic drug.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Hasegawa, S., Aoyama, T., Kakinoki, R., Toguchida, T., Nakamura, T.. Bilateral phlegmasia dolens associated with Trousseau's syndrome : A case report. Arch. Phys. Med. Rehab., in press.
- Shima, Y., Okamoto, T., Aoyama, T., Yasura, K., Ishibe, T., Nishijo, K., Shibata, K. R., Kohno, Y., Fukiage, K., Otsuka, S., Uejima, D., Nakayama, T., Nakamura, T., Kiyono, T., Toguchida, J. In vitro transformation of mesenchymal stem cells by oncogenic H-ras^{Val12}. Biochem. Biophys. Res. Commun., 353 : 60-6, 2007.
- Sato, H., Suemori, H., Toguchida, J., Iwata, H. Recombinant matrix protein for maintenance of undifferentiated primate embryonic stem cells. Tissue Eng., 13 : 1539-47, 2007.
- Shibata, K., Aoyama, T., Shima, Y., Fukiage, K., Otsuka, S., Furu, M., Kohno, Y., Ito, K., Fujibayashi, S., Neo, M., Nakayama, T., Nakamura, T., Toguchida, J. Expression of the p16INK4A gene is associated closely with senescence of human mesenchymal stem cells, and potentially silenced by DNA methylation during in vitro expansion. Stem Cells, 25 : 2371-82, 2007.
- Fujimoto, N., Fujita, S., Tsuji, T., Toguchida, J., Ida, K., Suginami, H., Iwata, H. Microencapsulated feeder cells as a

- source of soluble factors for expansion of CD34(+)hematopoietic stem cells. *Biomaterials*, 28 : 4795-805, 2007.
- Matsusaki, T., Kawanabe, K., Ise, K., Nakayama, T., Toguchida, J., Nakamura, T. Gene expression profile of macrophage-like U937 cells in response to polyethylene particles a novel cell-particle culture system. *J. Arthroplasty*, 22 : 960-5, 2007.
- Osone, S., Hosoi, H., Tanaka, K., Tsuchiya, K., Iehara, T., Morimoto, A., Hashida, T., Yamashita, M., Kawabata, K., Nishijo, K., Toguchida, J., Hata, J.I., Sugimoto, T. A case of a Ewing sarcoma family tumor in the urinary bladder after treatment for acute lymphoblastic leukemia. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.*, 29 : 841-844, 2007.
- Kageyama, S., Iwaki, H., Inoue, H., Isono, T., Yuasa, T., Nogawa, M., Maekawa, T., Ueda, M., Kajita, Y., Ogawa, O., T., Toguchida, J., Yoshiki, T. A novel tumor-related protein, C7orf24, identified by proteome differential display of bladder urothelial carcinoma. *Proteomics Clin. Appl.*, 1 : 192-199, 2007.
- 戸口田淳也：骨肉腫の分子生物学．小児外科，39 : 1369-74，2007．
- 戸口田淳也：骨・軟部腫瘍．専門医をめざす症例問題トレーニング．整形外科，58 : 232-8，2007．
- 戸口田淳也，石部達也，大塚聖視：骨軟部腫瘍における癌幹細胞．病理と臨床，25 : 343-51，2007．
- 青山朋樹，戸口田淳也：骨再生治療の開発の現状と問題点．*BIO Clinica* 22 : 49-53，2007．

2) 著 書

- 青山朋樹，戸口田淳也：培養細胞のエピジェネティック解析．再生医療に用いられる細胞・再生組織の評価と安全性．p19-31，シーエムシー出版，2007．

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

- 青山朋樹，岡本 健，伊藤錦哉，柴田弘太郎，吹上謙一，大塚聖視，布留守敏，林 浩司，木村 徹，原田秀幸，中村孝志，戸口田淳也：ヒト間葉系幹細胞の軟骨分化能における TGFβ3 の positive-feedback 機構の関与．第 20 回日本軟骨代謝学会(2007.3.2. 岡山)
- 大塚聖視，青山朋樹，中山富貴，戸口田淳也：多分化能からみた骨肉腫細胞の起源．第 14 回小児固形腫瘍研究会(2007.4.27. 京都)
- 布留守敏，長山 聡，石部達也，嶋 靖子，上島大輔，青山朋樹，中山富貴，中村孝志，片桐豊雅，中村祐輔，戸口田淳也：紡錘形軟部肉腫における生命予後因子 C7059 の解析．第 28 回近畿肉腫研究会(2007.6.9. 京都)
- Kenichi Fukiage, Tomoki Aoyama, Kotaro R. Shibata, Seiji Otsuka, Moritoshi Furu, Takashi Nakamura, Junya Toguchida. Identification of the CD marker associated with differentiation potential of human bone marrow stromal cells. 第 5 回 ISSCR(2007.6.17. Cairns)
- Seiji Otsuka, Tomoki Aoyama, Kotaro R. Shibata, Yasuko Shima, Kenichi Fukiage, Moritoshi Furu, Kinya Ito, Tomitaka Nakayama, Takashi Nakamura, Takanobu Otsuka, Junya Toguchida. Some osteosarcomas have multidirectional differentiation potential suggested that these cells may derive directly from mesenchymal stem cells. 第 5 回 ISSCR(2007.6.19. Cairns)
- Tomoki Aoyama, Takeshi Okamoto, Kinya Ito, Kotaro R. Shibata, Seiji Otsuka, Kenichi Fukiage, Moritoshi Furu, Hideyuki Harada, Koji Hayashi, Toru Kimura, Takashi Nakamura, Junya Toguchida. Chondrogenesis is induced

by TGFb3 positive-feedback mechanism in human mesenchymal stem cells. 第 5 回 ISSCR(2007.6.20. Cairns)
Kotaro R. Shibata, Tomoki Aoyama, Takashi Nakamura, Junya Toguchida. Expression of p16INK4A is a key regulator
of cell growth in mesenchymal stem cells. 第 5 回 ISSCR(2007.6.20. Cairns)

青山朋樹, 中村孝志, 戸口田淳也: 間葉系幹細胞を安全に再生医療に用いる際の評価法の確立. 第 32 回外科系連
合学会(2007.6.22. 東京)

戸口田淳也, 布留守敏, 長山 聡, 青山朋樹, 中山富貴, 中村孝志, 片桐豊雅, 中村祐輔: 網羅的遺伝子発現解析
からの紡錘形細胞肉腫における生命予後関連因子の単離. 第 40 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会
(2007.7.12. 甲府)

布留守敏, 長山 聡, 石部達也, 嶋 靖子, 上島大輔, 青山朋樹, 中山富貴, 中村孝志, 片桐豊雅, 中村祐輔, 戸
口田淳也: 紡錘形軟部肉腫における生命予後関連因子としての新規遺伝子 C7059 の単離と機能解析. 第 40
回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2007.7.12. 甲府)

大塚聖視, 青山朋樹, 柴田弘太郎, 吹上謙一, 中山富貴, 中村孝志, 大塚隆信, 戸口田淳也: 培養骨肉腫細胞のも
つ間葉系幹細胞様の多分化能. 第 40 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2007.7.12. 甲府)

光野芳樹, 青山朋樹, 長山 聡, 中山富貴, 中村孝志, 戸口田淳也: 滑膜肉腫の上皮構造形成における CLDN7,
ELF3 および Snail の関連性について. 第 40 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会(2007.7.12. 甲府)

中山富貴, 坪山直生, 戸口田淳也, 保坂泰介, 中村孝志: 四肢骨巨細胞腫の治療成績. 第 40 回日本整形外科学会
骨軟部腫瘍学術集会(2007.7.13. 甲府)

吹上謙一, 青山朋樹, 柴田弘太郎, 大塚聖視, 布留守敏, 中村孝志, 戸口田淳也: 不死化間葉系幹細胞を用いた分
化能関連細胞表面マーカーの探索. 第 28 回炎症・再生医学会(2007.8.2. 東京)

Moritoshi Furu, Satoshi Nagayama, Takashi Nakamura, Yusuke Nakamura, Junya Toguchida, Isolation and functional
analysis of a novel protein identified as the prognostic factor in spindle cell sarcomas. 第 5 回 SIROT(2007.8.31.
Marrakech)

Yoshiki Kohno, Tomoki Aoyama, Tomitaka Nakayama, Takashi Nakamura, Junya Toguchida, Relationship among
CLDN7, ELF3, and Snail in the formation of the epithelial structures in synovial sarcomas. 第 5 回 SIROT
(2007.8.31. Marrakech)

福川千香子, 片桐豊雅, 花岡宏史, 長山 聡, 戸口田淳也, 遠藤啓吾, 中村祐輔: イットリウム 90-抗 FZD10 モ
ノクローナル抗体による滑膜肉腫抗体治療の検討. 第 66 回日本癌学会総会(2007.10.3. 横浜)

Seiji Otsuka, Tomoki Aoyama, Kotaro R. Shibata, Yasuko Shima, Kenichi Fukiage, Tomitaka Nakayama, Takashi
Nakamura, Takanobu Otsuka, Junya Toguchida. Some osteosarcomas have multidirectional differentiation
potential like mesenchymal stem cells in vitro and in vivo. 第 66 回日本癌学会総会(2007.10.3. 横浜)

Moritoshi Furu, Satoshi Nagayama, Tatsuya Ishibe, Yasuko Shima, Daisuke Ueshima, Tomoki Aoyama, Tomitaka
Nakayama, Takashi Nakamura, Toyomasa Katagiri, Yusuke Nakamura, Junya Toguchida. Isolation and
functional analysis of a novel protein associated with the distant metastases of spindle cell sarcomas. 第 66 回
日本癌学会総会(2007.10.4. 横浜)

Yoshiki Kohno, Satoshi Nagayama, Tomoki Aoyama, Tomitaka Nakayama, Takashi Nakamura, Junya Toguchida. Snail
is negative regulator controlling the construction of epithelial structures in SS. 第 66 回日本癌学会総会
(2007.10.4. 横浜)

戸口田淳也: 骨髄間葉系幹細胞を用いた骨再生医療: 基礎実験から臨床試験申請までの道程. 21 世紀 COE シンポ

ジウム「再生医療と生命倫理 2」(2007.10.6. 京都)

布留守敏, 長山 聡, 青山朋樹, 中村孝志, 中村祐輔, 戸口田淳也: 紡錘形軟部肉腫における生命予後因子 C7059 と細胞浸潤能の解析. 第 22 回日本整形外科学会基礎学術集会(2007.10.25. 浜松)

光野芳樹, 青山朋樹, 長山 聡, 中山富貴, 中村孝志, 戸口田淳也: 滑膜肉腫の上皮構造形成における CLDN7, ELF3 および Snail の関連性について. 第 22 回日本整形外科学会基礎学術集会(2007.10.26. 浜松)

伊藤錦哉, 青山朋樹, 大塚聖視, 中村孝志, 大塚隆信, 戸口田淳也: 遠心操作を用いない間葉系幹細胞分離法の開発. 第 22 回日本整形外科学会基礎学術集会(2007.10.26. 浜松)

Moritoshi Furu, Satoshi Nagayama, Tatsuya Ishibe, Yasuko Shima, Daisuke Ueshima, Tomoki Aoyama, Tomitaka Nakayama, Takashi Nakamura, Toyomasa Katagiri, Yusuke Nakamura, Junya Toguchida. Isolation and functional analysis of a novel protein associated with the distant metastases of spindle cell sarcomas. 第 13 回 CTOS(2007.11.2. Seattle)

Seiji Otsuka, Tomoki Aoyama, Kotaro R. Shibata, Yasuko Shima, Kenichi Fukiage, Tomitaka Nakayama, Takashi Nakamura, Takanobu Otsuka, Junya Toguchida. Multidirectional differentiation property like mesenchymal stem cells of osteosarcomas in vitro and in vivo. 第 13 回 CTOS(2007.11.2. Seattle)

Yoshiki Kohno, Satoshi Nagayama, Tomoki Aoyama, Tomitaka Nakayama, Takashi Nakamura, Junya Toguchida. Snail is negative regulator controlling the construction of epithelial structures in SS. 第 13 回 CTOS(2007.11.2. Seattle)

大塚聖視, 青山朋樹, 丸山隆幸, 中村孝志, 大塚隆信, 戸口田淳也: 関節軟骨損傷治療剤としての EP2 アゴニストの in vivo における検証. 第 22 回日本整形外科学会基礎学術集会(2007.11.25. 浜松)

青山朋樹, 戸口田淳也: 間葉系幹細胞をバイオマテリアルとして用いるための品質評価法の確立. 第 29 回日本バイオマテリアル学会(2007.11.26. 大阪)

青山朋樹, 光野芳樹, 大塚聖視, 吹上謙一, 布留守敏, 伊藤錦哉, 長山 聡, 中山富貴, 中村孝志, 戸口田淳也: 内因性ヒストンテール修飾因子によるコンドロモジュリン I 遺伝子発現制御機構の解析. 第 30 回日本分子生物学会年会(2007.12.13. 横浜)

器官形成応用分野 Department of Organ Reconstruction

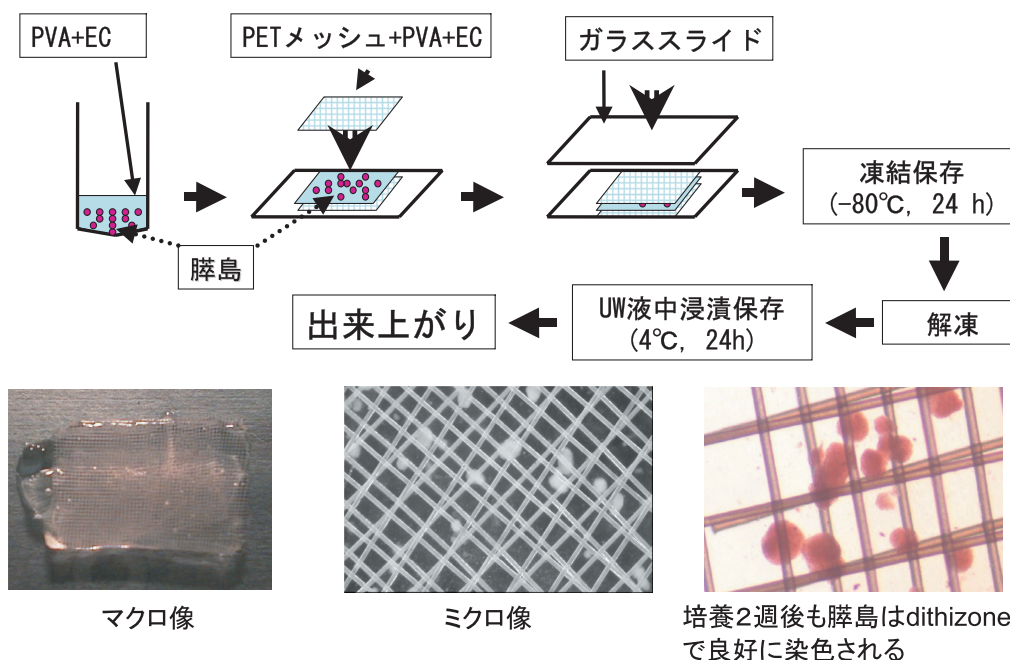
准教授 角 昭一郎
Assoc. Prof. Shoichiro Sumi

【研究概要】

本分野では、膵 Langerhans 島(膵島)の再生医療を中心的な研究テーマとしており、全世界で増加している糖尿病に対して、希望すればいつでも受けられる安全で根治的な治療法の開発を目指して研究を行っている。重症糖尿病治療は主としてインスリン補充療法に依存してきたが、根本的治療をめざす膵臓や膵島の移植が我が国でもよう

PVA凍結・再解凍による新しいバイオ人工膵

凍結液：Euro-Collins液，10 mM Nicotinamide，10% FBS，5% DMSO + 3% PVA



やく定着してきた。しかし、ドナー不足と永続的な免疫抑制という移植医療に共通の問題は避けられず、いつでも受けられる安全な治療法という理想からは大きな隔たりがある。また、ここ数年、低侵襲の移植医療として大きな期待を担ってきた膵島移植も、実施施設間の成績のばらつきや、長期的な有効性に疑問が持たれるなど、なお解決されるべき問題が多い。

膵島再生医療を実現するための道筋としては、最も直接的に自己の膵島再生を促進する方法、自己または他者に由来する組織幹細胞あるいはES(胎性幹)細胞やiPS(人工多能性幹)細胞から膵島様細胞を分化誘導する方法、さらに、ヒト以外の異種動物の膵島を分離して利用する方法などが研究されており、これらの方法が一部でも応用可能となれば、ドナー不足の問題は相当程度解決される。しかし、患者自身に由来する細胞を使用するのでない限り拒絶反応の対象となり、また、治療対象疾患が自己免疫が関与する1型(インスリン依存性)糖尿病であることを考慮すると、膵島や膵島様細胞を患者の免疫機構から保護する対策が必要である。本分野では、膵島や膵島様細胞を免疫隔離能を有する各種の半透膜で包んで拒絶反応を抑制することで、免疫抑制を行うことなく膵島移植と同等の治療効果が期待されるバイオ人工膵の研究を行っている。このようなバイオ人工膵が臨床に応用できるようになれば、重症糖尿病に対する有力な治療法となり得る。

本分野では、ラットやブタの膵島分離法を確立し、これらを用いて、メッシュ補強ポリビニルアルコール(PVA)バッグやポリスチレンスルホン酸混合アガロースゲルによるマクロカプセル化など、各種のバイオ人工膵の研究開発を行ってきた。また、あらかじめ血管誘導処置を施した皮下組織を移植部位とすることで、このようなデバイスの皮下移植によって異種膵島による長期の血糖正常化が達成されることをマウス糖尿病モデルの治療実験で明らかにしてきた。さらに最近では、イヌなど大型動物や最終的な目標であるヒトに応用可能な大型のバイオ人工膵を作製することをめざした全く新しい独自のバイオ人工膵作成技術として、膵島の凍結保存法と凍結によるPVAのゲル化を組み合わせた作製法を開発して、その有用性をマウスおよびラットの糖尿病モデルへの移植実験で確認している。即ち、膵島凍結保存液にPVAを溶解した粘性の高い溶液に膵島を浮遊させ、この液体をメッシュで補強し

てシート状に成形した後、凍結・溶解してゲル状のバイオ人工膵シートを作成する。この方法によれば、デバイスの面積や厚さを自由にコントロールすることが可能で、将来の大型化に大きく道を拓くものと考えている。

本年は、このバイオ人工膵を用いてラットから重症糖尿病ラットへの同種同系および同種異系膵島移植実験を行って、デバイスの効果と問題点を明らかにすることを試みた。その結果、単純な膵島移植では拒絶されるウィスター系からルイス系への移植であっても、比較的長期の血糖低下が得られることを確認している。一方、ルイス系からルイス系への膵島移植は拒絶されることなく長期にわたり機能するが、この系で膵島をマクロカプセル化した場合は、異系の場合と類似した経過で機能が廃絶することが示唆された。現在は、カプセル化膵島のより長期の機能維持を目指して、カプセル化法の改善を課題として取り組んでいる。

また、バイオ人工膵の皮下移植や、閉塞性動脈硬化症など虚血性疾患の治療に応用する目的で、血管新生誘導の基礎的研究を行っており、昨年に引き続き、ラット背部の虚血皮弁モデルを用いて、皮弁皮下へのフィブリン塗布が虚血性皮弁の血流を改善し、壊死を抑制することを報告した。

その他の関連事項としては、通常は *in vitro* では増殖しない膵島細胞が未分化細胞との細胞融合によるリプログラミングを通して増殖能を獲得する可能性について検討する目的で、電気的細胞融合の実験を行い、基礎的な細胞融合技術をほぼ確立した。現在は、*in vitro* での増殖・インスリン分泌動態や、移植時の機能・増殖等について評価すべく、実験を実施中である。

Our major object is to develop regenerative medicine for diabetes mellitus. The goal of our studies is to establish a safe and effective therapy available whenever required for a growing number of diabetes patients all over the world. Although therapy for severe diabetes mellitus still depends mostly on insulin replacement therapy, a slowly growing number of patients are recently treated by pancreas organ transplantation or islet transplantation even in Japan. However, donor shortage and complications due to immunosuppressive therapy are inevitable problems of allo-transplantation. In addition, islet transplantation that drew attention as a promising curable treatment has become less attractive because of rather a short duration of insulin-free period after transplantation and poor outcome in some facilities. Therefore, current transplantation therapies are still far from our dreams.

In order to develop regenerative medicine for diabetes mellitus, there are several different approaches such as enhancement of patient's own islet regeneration, auto- or allo-geneic islet-like cells differentiated from somatic stem cells, embryonic stem (ES) cells or induced pluripotent stem (iPS) cells *in vitro* and xeno-geneic islets isolated from the pancreas of animals e.g. pigs. If these cells are clinically usable, the problem of donor shortage will be solved. However, as long as allo-geneic cells are used and even autologous cells are used to type-1 diabetes that has autoimmune background, efficient immunosuppression should still be required. In order to avoid immunosuppression, we are diligently studying bio-artificial pancreas, in which islet cells are encapsulated by several kinds of semi-permeable membrane and protected from host immune responses.

We have established isolation method of porcine pancreatic endocrine cells as well as rat islets. Using these islets, we have successfully shown the efficacy of several macro-devices of bioartificial pancreas such as mesh-reinforced polyvinyl alcohol (PVA) tube and bag, rod-shaped device of agarose containing polystyrene sulfonate, anti-complement substance, and so on in allo- and xeno-geneic situations. We have also shown that the subcutaneous site pretreated for angiogenesis can be successfully used for transplantation site of these devices, leading to long-term normalization of blood glucose levels in diabetic mice. Recently we developed a novel method to make a sheet type PVA-

macroencapsulated islets by a combination of the freezing technique of islets and the phenomenon that PVA solution becomes gel by freezing and thawing. Briefly, islets are suspended in islet freezing solution containing PVA and this viscous solution is molded into a mesh-reinforced sheet and then frozen. This method enables us to make a device of any size with any shape that may be applicable to bigger animals and humans.

Using this macro-device, we recently examine this device in iso- and allogeneic situations in rats and found that hyperglycemia can be improved for more than a month in the allo-geneic situation in that transplanted free islets are promptly rejected (Wistar to Lewis). On the other hand, in iso-genic situation (Lewis to Lewis) in which free islets survive long duration, the effect of the device attenuates in a similar manner as in the allo-geneic situation. Therefore, we are currently trying to improve the methods for better and longer function of the device.

Other related researches are as follows. We studied fibrin solution to treat ischemic skin flaps and found that local application of fibrin can successfully reduce the ischemic necrosis with an increase in tissue blood flow. In addition, we have established a method of cell fusion between islet cells and mesenchymal stem cells and currently studying its effect on islet function *in vitro* and *in vivo* after transplantation.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Sakata N, Sumi S, GuY, Qi M, Yamamoto C, Makoto Sunamura M, Egawa S, Unno M, Matsuno S, Inoue K.
Hyperglycemia and diabetic renal change in a model of PVA bio-artificial pancreas transplantation. *Pancreas* 34 : 458-465(2007)

Qi Z, Gu Y, Kim D, Hiura A, Sumi S, Inoue K. The effect of fibrin on the survival of ischemic skin flap in rats. *Plastic and Reconstructive Surgery* 120 : 1148-1155(2007)

2) 著書・総説

角昭一郎, 古谷栄光 全身糖代謝シミュレータの開発研究 平成 19 年カシオ科学振興財団年報 p100-p101, 2007.8

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

漆 智, 奇梅日更, 坂田直昭, 山本ちづる, 柳井伍一, 日裏彰人, 角昭一郎, 井上一知: 凍結法による polyvinyl alcohol (PVA) バイオ人工臓に関する検討. 「第 6 回日本再生医療学会総会」(2007.3.14. 横浜)

Zhi Qi, Meirigeng Qi, Naoaki Sakata, Chidzuru Yamamoto, Goichi Yanai, Akihito Hiura, Shoichiro Sumi, Kazutomo Inoue : Polyvinyl alcohol(PVA) macroencapsulation for the bioartificial pancreas(BAP). 「The First Biennial Congress of the Asian-Pacific Hepato-Pancreato-Biliary Association」(2007.3.22. Fukuoka)

漆 智, 柳井伍一, 日裏彰人, 角昭一郎, 井上一知: polyvinyl alcohol(PVA) バイオ人工臓を用いたラット同種臓器移植に関する検討. 「第 34 回臓器・臓器移植研究会」(2007.3.31. 大阪)

漆 智, 角昭一郎, 奇梅日更, 坂田直昭, 山本ちづる, 柳井伍一, 日裏彰人, 井上一知: 凍結法による polyvinyl alcohol

(PVA)マクロカプセル化膵島,「第19回日本肝胆膵外科学会」(2007.6.8. 横浜)

漆 智,角昭一郎,奇梅日更,坂田直昭,山本ちづる,柳井伍一,日裏彰人,井上一知:凍結法による polyvinyl alcohol

(PVA)マクロカプセル化膵島に関する検討,「第24回胆膵生理機能研究会」(2007.6.23. 金沢)

柳井伍一,林 隆志,漆 智,角昭一郎,井上一知:ラット膵島細胞と間葉細胞を用いた電気融合実験における基礎的研究,「第38回日本膵臓学会大会」(2007.6.28-29. 福岡)

漆 智,角昭一郎,奇梅日更,坂田直昭,山本ちづる,柳井伍一,日裏彰人,井上一知:凍結法による polyvinyl alcohol

(PVA)マクロカプセル化膵島の作成とその有用性,「第38回日本膵臓学会」(2007.6.29. 福岡)

Shoichiro Sumi, Zhi Qi, Goichi Yanai, Meirigeng Qi, Yuanjun Gu, Naoaki Sakata, Chizuru Yamamoto, Akihito Hiura, Kazutomo Inoue: Studies on polyvinyl alcohol(PVA) macro-encapsulated islets. 「2007 Joint Conference (Cell Transplantation Society, International Pancreas and Islet Transplantation Association and International Xenotransplantation Association)」(2007.9.15-20. Minneapolis, MN, USA)

Zhi Qi, Meirigeng Qi, Naoaki Sakata, Chizuru Yamamoto, Goichi Yanai, Akihito Hiura, Shoichiro Sumi: Analysis of macro-encapsulated islets using polyvinyl alcohol(PVA) 「International Symposium on Regenerative Medical Therapy 2007」(2007.9.19. Kyoto)

Goichi Yanai, Takashi Hayashi, Qi Zhi, Akihito Hiura, Shoichiro Sumi, Takashi Shimabukuro, Kazutomo Inoue: Studies on electro-fusion of mesenchymal stem cells and pancreatic islet-cells. 「International Symposium on Regenerative Medical Therapy」(2007.9.19-20. Kyoto)

2) 講演・シンポジウム

角昭一郎:糖尿病に対する再生医療の現状と展望,「第22回日本静脈経腸栄養学会」(武藤輝一記念教育講演)(2007.2.8. 松山市)

角昭一郎:ポリビニルアルコールによるマクロカプセル化膵島について,「医工学フォーラム 2006」(2007.2.21. 京都市)

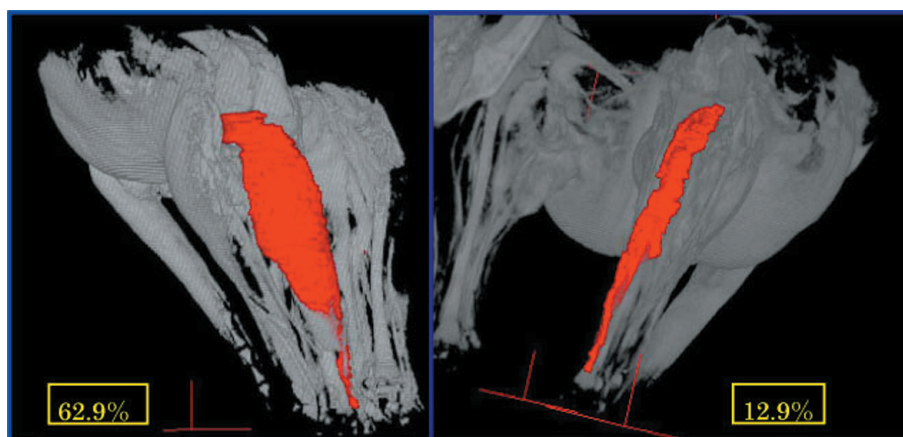
角昭一郎:糖尿病に対する再生医療,「第34回日本臓器保存生物医学学会定期学術集会」(シンポジウム2 再生医療の break through)(2007.11.16. 札幌市)

臓器再建応用分野 Department of Bioartificial Organs

准教授 中村 達雄
Assoc. Prof. Tatsuo Nakamura

【研究概要】

臓器再建応用分野の研究目的は,新しい *in situ* Tissue Engineering や再生医学を推進して人間の幸福に貢献することです。これによって,これまで治療法がなかった患者,或いは移植ドナーの不足のために治療が受けら



人工神経(PGA-c チューブ)で再生させた腓骨神経による下肢筋の回復：膝部から足関節までのMRI画像を撮影し、前脛骨筋体積を計算した。PGA-c チューブにて腓骨神経再建後12ヶ月で62.9%まで回復しているのに対して、negative controlでは12.9%にまで低下している。

Recovery of the Muscle after reconstruction with our artificial nerve graft (PGA-c tube). At 12 months after surgery, the ratio of TA muscle volume (=the muscle volume on the treated side/ the muscle volume on the positive control side) for the PGA-Ctube was 0.63, and the ratio for the negative control was only 0.13.

れない症例が救われることを目指します。さらに、再生医療が普及することにより高騰を続ける医療費が抑制され、これによって社会に貢献すると考えています。

人間の体には秘められた再生能があります。それを引き出す新しい手法を開発しています。すなわち、自己の細胞が増殖、分化できる足場となる適切な環境を体内に与えることによって、自己の臓器が本来の構造と機能を取り戻して再生復元するようにしています。研究の方法としては、再生医学の3つの柱である(1)足場、(2)細胞、(3)増殖・成長因子、を生体内で働かせる *in situ* Tissue Engineering という方法を独自に開発してそれを進めています。すなわち、同種・異種の臓器や組織から酵素で分解・抽出して完全に免疫原性をなくしたコラーゲンから再構成した細胞外マトリックス、或いは Detergent で細胞を完全に除去した細胞外マトリックス、生体内で分解吸収される合成高分子、増殖因子など DDS(薬物送達システム)を組み合わせ、欠落した組織や臓器の再生する足場となる枠組み(細胞外マトリックス)を生体内に作ります。この枠組みを足場として利用して、生体内の幹細胞が増殖、分化し、自己の組織や臓器が再生復元されます。また、幹細胞の分離・増殖を行い組織再生に用いる研究や瘢痕状になった細胞外マトリックスを融かして、再び本来の細胞外マトリックスに戻す研究も進めています。

現在行っている研究内容は下記のように分類されます。

- ①角膜、心膜、胸膜、腹膜、脳硬膜などの膜系
- ②血管、気管、喉頭、消化管などの管状臓器
- ③外力の加わる組織(骨、永久歯、歯根膜)
- ④末梢神経
- ⑤脊髄・大脳などの中枢神経系
- ⑥泌尿器系組織
- ⑦肺、腎臓、肝臓、甲状腺、上皮小体、脾臓などの実質性代謝臓器
- ⑧脂肪組織や筋肉組織、皮膚、その他軟組織
- ⑨人工臓器の開発や造影剤の研究
- ⑩手術器具・手術方法の研究
- ⑪バイオマテリアルの研究

当分野の研究は、細胞が増殖、再分化して、元の臓器を還元させる“場”(環境)を人工的に体の中に作れば、哺乳動物の臓器や組織も両生類のイモリのように再生還元するというメカニズムを医学に応用するものです。このような *in situ* Tissue Engineering は世界に先駆けて我々が提唱してきた方法で人工気管や人工神経など臨床に応用され、これによって救われる患者さんの数も着々と増えてきています。この新しい技術は 21 世紀の医療の中心的柱になると考えています。

In situ Tissue Engineering : We have devised a completely new approach to the development of artificial organs. The main procedure using tissue engineering for tissues and internal organs involves the removal of the cell component from auto- or allo-organs to obtain only the extracellular matrix, so-called refined extracellular matrix (ECM) and reconstitutes the solid structure from the extracted collagen. This ECM or reconstituted structure is then employed as scaffolding, which after implantation into the patients is used for the regeneration or re-differentiation of tissue. Organs made of self-cells thus regenerate. Organs that regenerate in this manner not only possess highly differentiated tissue structures, but also show functional recovery, because all the cells are derived from the patients themselves. Whether or not our new method is practicable will depend mainly on the intrinsic regeneration capacity of each tissue. Up to now, in higher mammals including man, it has been believed that highly differentiated organs lose their ability to regenerate. We consider that mammals do not, in fact, lose this potential, and that the potential is hidden by excessively rapid wound healing around the failing tissues. In this sense, if we can provide good conditions using refined ECM, we can induce this hidden potential even in higher mammals. We have already carried out successful trials at regenerating peripheral nerves, the esophagus, the trachea, and blood vessels with this method. A similar method is also applicable to other soft tissue organs such as the liver, heart, and lung, as well as the spinal cord. These results will be welcomed by patients who are dependent on palliative life-support systems, or transplantation candidates who are waiting for suitable donors. An additional benefit is that patients will be freed from the side effects of immunosuppressive drugs. The judgment of the brain death can then be discussed separately from the issue of transplantation, and will become a personal problem. Further more, this new approach help to reduce ever-expanding medical costs, which are in danger of destroying our health insurance system in the near future.

No study based on these concepts has ever been done either in Japan or abroad. In this sense, our pioneering work is expected to be a major area of medical science for the coming generation.

Strategy and targets of our study

The target organs currently being considered for this development project are the heart, heart valves, esophagus, stomach, intestine, gallbladder, trachea, lung, liver, kidney, peripheral nerves, spinal cord, cornea, tendons, ligaments, cartilage, bone, fatty tissue, periodontal tissue, and permanent teeth. We plan to employ the two major methods as described below.

ECM Method

To obtain the purified extracellular matrix, cell components are completely removed from homo or allo-organs. The solid structure is reconstituted from the ECM and extracted collagen. Growth factors are then applied to facilitate cell proliferation. Then this ECM-collagen-growth factor composite is implanted into the living body as a temporary

scaffolding for new organ regeneration. Besides this, bioabsorbable materials will also be applied instead of purified ECM as a bulk structure for organ regeneration. Both extracted collagen and growth factors are should facilitate cell proliferation and cell redifferentiation, leading to regeneration of organs completely composed of cells derived from patients.

Cell+ECM Method

Cells (or living tissues) of patients are complexed (mixed) with purified ECM or bioabsorbable material. Using this complex, reconstruction of the failing tissues or organs will be attempted. Mesenchymal stem cell (MSC) obtained from the bone marrow is now applied to this method.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Araki, M., Tao, H., Sato, T., Nakajima, N., Sugai, H., Hyon, S-H., Nagayasu, T., Nakamura, T. : Creation of a uniform pleural defect model for the study of lung sealants. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* **134** : 145-151 (2007)

Araki, M., Tao, H., Nakajima, N., Sugai, H., Sato, T., Hyon, S-H., Nagayasu, T., Nakamura, T. : Development of new biodegradable hydrogel glue for preventing alveolar air leakage. *J Thorac Cardiovasc Surg.* **134** : 1241-1248 (2007)

市原理司, 中村達雄, 稲田有史, 遠藤克昭, 東 高志, 中井隆介, 堤 定美, 黒澤 尚: 距離のある神経欠損に対する人工神経の開発. *Peripheral Nerve* **18** : 237-238 (2007)

稲田有史, 中村達雄, 諸井慶七郎, 森本 茂: Polyglycolic acid-collagen (PGA-C) tube の臨床応用の現状と手技の要点. *PEPARS* **14** : 132-137 (2007)

稲田有史, 中村達雄, 諸井慶七郎, 橋爪圭司, 古家 仁, 高倉義典: 複合性局所疼痛症候群 (CRPS) の治療 末梢からのアプローチ. *臨床整形外科* **42** : 501-509 (2007)

稲田有史, 中村達雄, 諸井慶七郎, 森本 茂, 古家 仁, 橋爪圭司: 神経ガイドチューブを用いた末梢神経機能再生. *Medical Science Digest* **133** : 14-18 (2007)

稲田有史, 中村達雄, 市原理司, 諸井慶七郎, 橋爪圭司, 古家 仁, 森本 茂: Polyglycolic acid (PGA) - Collagen tube による末梢神経再生の臨床. *Peripheral Nerve* **18** : 118-121 (2007)

Umeda, H., Kanemaru, S., Yamashita, M., Kishimoto, M., Tamura, Y., Nakamura, T., Omori, K., Hirano, S., Ito, J. : Bone regeneration of canine skull using bone marrow-derived stromal cells and beta-tricalcium phosphate. *Laryngoscope* **117** : 997-1003 (2007)

Ohno, T., Hirano, S., Kanemaru, S., Yamashita, M., Umeda, H., Suehiro, A., Tamura, Y., Nakamura, T., Ito, J., Tabata, Y. : Drug delivery system of hepatocyte growth factor for the treatment of vocal fold scarring in a canine model. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* **116** : 762-9 (2007)

Ohno, T., Hirano, S., Kanemaru, S., Yamashita, M., Umeda, H., Suehiro, A., Nakamura, T., Ito, J. : Expression of extracellular matrix proteins in the vocal folds and bone marrow derived stromal cells of rats. *Eur Arch*

Otorhinolaryngol. (in press)

Kanemaru, S., Nakamura, T., Yamashita, M., Magrufov, A., Omori, K., Ito, J. : 5-fluorouracil ointment for the treatment of otitis media with effusion. *Laryngoscope*. **117** : 215-219 (2007)

Kanemaru, S., Nakamura, T., Omori, K., Magrufov, A., Yamashita, M., Ito, J. : Functional regeneration of tissue engineered recurrent laryngeal nerve and the mechanism of this process studied on the peroneal nerve. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. (in press)

Nakashima, S., Nakamura, T., Miyagawa, K., Yoshikawa, T., Kin, S., Kuriu, Y., Nakase, Y., Sakakura, C., Otsuji, E., Hagiwara, A., Yamagishi, H. : In situ tissue engineering of the bile duct using polypropylene mesh-collagen tubes. *Int J Artif Organs*. **30** : 75-85 (2007)

Nakashima, S., Nakamura, T., Han, L., Miyagawa, K., Yoshikawa, T., Sakakura, C., Hagiwara, A., Otsuji, E. : Experimental biliary reconstruction with an artificial bile duct using *in situ* Tissue Engineering technique. *Inflammation and Regeneration* **27** : 579-585 (2007)

Nakase, Y., Nakamura, T., Kin, S., Nakashima, S., Yoshikawa, T., Kuriu, Y., Miyagawa, K., Sakakura, C., Otsuji, E., Ikada, Y., Yamagishi, H., Hagiwara, A. : Endocrine cell and nerve regeneration in autologous *in situ* tissue-engineered small intestine. *J Surg Res*. **137** : 61-68 (2007)

Hayakawa, K., Nakamura, T., Shimizu, Y. : Effect of hyperosmolality and cations on iodinated contrast medium-induced potassium release from human blood cells. *Radiat Med* **25** : 467-473 (2007)

Yamashita, M., Kanemaru, S., Hirano, S., Magrufov, A., Tamaki, H., Tamura, Y., Kishimoto, M., Omori, K., Nakamura, T., Ito, J. : Tracheal regeneration after partial resection : A tissue engineering approach. *Laryngoscope*. **117** : 497-502 (2007)

Yamashita, M., Kanemaru, S., Hirano, S., Tamura, Y., Umeda, H., Ohno, T., Suehiro, A., Omori, K., Nakamura, T., Ito, J. : A regenerative approach for partial tracheal defects, an *in vivo* canine model. *Inflammation and Regeneration* **27** : 570-574 (2007)

Yamashita, M., Omori, K., Kanemaru, S., Magrufov, A., Tamura, Y., Umeda, H., Kishimoto, M., Nakamura, T., Ito, J. : Experimental regeneration of canine larynx : a trial with tissue engineering techniques. *Acta Otolaryngol*. **557** : 66-72 (2007)

Yoshitani, M., Fukuda, S., Itoi, S., Morino, S., Tao, H., Nakada, A., Inada, Y., Endo, K., Nakamura, T. : Experimental repair of phrenic nerve using a polyglycolic acid and collagen tube. *J Thorac Cardiovasc Surg*. **133** : 726-32 (2007)

2) 著 書

中村達雄：食道，「再生医療工学の技術」(監修：筏 義人，シーエムシー出版)165-170(2007) (全 251 ページ)

稲田有史：4. 神経損傷 ③断端神経腫の治療のコツ. *Knack&Pitfalls 手の外科の要点と盲点*. (文光堂)235-237 (2007)

稲田有史：4. 神経損傷 有連続性神経腫の治療のコツ. *Knack&Pitfalls 手の外科の要点と盲点*. (文光堂)238-289 (2007)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

中村達雄：*in situ* Tissue Engineering の胸部外科への臨床応用．医工学フォーラム ―2006 年度特別学術講演会―
(2007.2.21, 京都)

中村達雄：再生医療を応用した気管形成の臨床応用．第 19 回関東小児外科症例検討会(2007.3.17, 東京)

Nakamura, T., Inada, Y., Hagiwara, A., Kanemaru, S.: *In situ* Tissue Engineering on Regeneration of Peripheral Nerves. 第 107 回日本外科学会定期学術集会(2007.4.11-13, 大阪)

Nakamura, T., Ichihara, S., Nakada, A., Satoh, T., Itoi, S., Shigeno, K., Kanemaru, S., Inada, Y., Fujikawa, T., Moroi, K., Endo, K.: An artificial nerve (biodegradable nerve guide tube) and peripheral nerve regeneration. American Society for Artificial Internal Organs, 53rd Annual Conference (2007.6.7-9, Chicago)

中村達雄：*in situ* Tissue Engineering の呼吸器外科への臨床応用．第 30 回日本呼吸器内視鏡学会 九州支部総会
(2007.8.24, 長崎)

Nakamura, T.: *in situ* Tissue Engineering and its clinical application. TERMIS-AP 2007 (2007.12.3-5, Tokyo)

荒木政人, 中島直喜, 須賀井 一, 玄 丞, 永安 武, 中村達雄：新しい生体内分解性接着剤を用いた脾液漏予防効果の検証．第 19 回日本肝胆膵外科学会・学術集会(2007.6.6-8, 横浜)

Araki, M., Tao, H., Nakajima, N., Sugai, H., Sato, T., Hyon, S-H., Nagayasu, T., Nakamura, T.: New surgical sealant: a biodegradable hydrogel glue for tissue regeneration on lung injury. TERMIS (2007.6.13-16, Toronto)

荒木政人, 田尾裕之, 佐藤寿彦, 中島直喜, 永安 武, 中村達雄：コラーゲンスポンジと吸収性ポリマーを用いた組織工学による胃壁再生への取り組み．第 62 回日本消化器外科学会定期学術総会(2007.7.18-20, 東京)

荒木政人, 田尾裕之, 佐藤寿彦, 中島直喜, 須賀井 一, 玄 丞, 永安 武, 中村達雄：新しい生体内分解性接着剤による損傷肺の修復と肺瘻閉鎖効果の検証．第 28 回日本炎症・再生医学会(2007.8.2-3, 東京)

荒木政人, 中島直喜, 須賀井 一, 田尾裕之, 佐藤寿彦, 玄 丞, 永安 武, 中村達雄：肺瘻閉鎖のための新しいフィルム状生体内分解性接着剤の開発と効果．第 60 回日本胸部外科学会定期学術集会(2007.10.17-20, 仙台)

荒木政人, 中島直喜, 須賀井 一, 田尾裕之, 佐藤寿彦, 玄 丞, 永安 武, 中村達雄：新しい生体内分解性接着剤による肺瘻閉鎖効果と生体内適合性に関する検証．第 10 回日本組織工学会(2007.11.8-9, 東京)

荒木政人, 田尾裕之, 中島直喜, 須賀井 一, 佐藤寿彦, 玄 丞, 永安 武, 中村達雄：胸膜肺実質欠損モデルを用いた新しい生体内分解性合成接着剤による肺瘻閉鎖効果の検証．第 29 回日本バイオマテリアル学会大会(2007.11.26-27, 大阪)

市原理司, 中村達雄, 遠藤克昭, 稲田有史, 糸井真一, 東 高志, 堤 定美, 黒澤 尚：距離のある神経欠損に対する新しい神経チューブの開発．第 80 回日本整形外科学会学術総会(2007.5.24-27, 神戸)

Ichihara, S., Nakamura, T., Itoi, S., Endo, K., Kurosawa, H.: Development of new nerve guide tube for longer nerve defect. American Society for Artificial Internal Organs, 53rd Annual Conference (2007.6.7-9, Chicago)

Ichihara, S., Takigawa, T., Kurosawa, H., Nakamura, T.: Biomechanical properties and biocompatibility of bioabsorbable nerve guide tube for peripheral nerve regeneration. TERMIS (2007.6.13-16, Toronto) Oral & Poster.

市原理司, 糸井真一, 稲田有史, 遠藤克昭, 黒澤 尚, 中村達雄：コンドロイチナーゼ ABC を用いた末梢神経の

- 再生. 第 28 回日本炎症・再生医学会(2007.8.2-3. 東京)
- 市原理司, 中村達雄, 稲田有史, 遠藤克昭, 東 高志, 中井隆介, 堤 定美, 黒澤 尚: 距離のある神経欠損に対する人工神経の開発. 第 18 回日本末梢神経学会学術集会(2007.8.24-25. 弘前)
- Ichihara, S., Nakamura, T., Inada, Y., Itoi, S., Nakada, A., Endo, K., Azuma, T., Nakai, R., Tsutsumi, S., Sakuraba, K., Kurosawa, H.: Development of new nerve guide tube for longer nerve defect. XXXIV. Conference of European Society for Artificial Organs(2007.9.5-8. Krems)
- Ichihara, S., Inada, Y., Nakada, A., Endo, K., Azuma, T., Nakai, R., Tsutsumi, S., Kurosawa, H., Nakamura, T.: Development of new nerve guide tube for longer nerve defects. International Symposium on Regenerative Medical Therapy(2007.9.19-20. Kyoto)
- 市原理司, 稲田有史, 遠藤克昭, 糸井真一, 中田 顕, 東 高志, 中井隆介, 黒澤 尚, 中村達雄: 長い神経欠損に対応可能な力学特性を持つ神経誘導管の開発. 第 34 回日本マイクロサージャリー学会学術集会(2007.10.18-19. 福島)
- 市原理司, 中村達雄, 稲田有史, 東 高志, 中井隆介, 黒澤 尚: 長い神経欠損を克服するための新しい人工神経の開発. 第 22 回日本整形外科学会基礎学術集会(2007.10.25-26. 浜松)
- 市原理司, 中村達雄, 稲田有史, 糸井真一, 遠藤克昭, 黒澤 尚: コンドロイチナーゼ ABC を用いた末梢神経の再生. 第 22 回日本整形外科学会基礎学術集会(2007.10.25-26. 浜松)
- 市原理司, 中田 顕, 稲田有史, 糸井真一, 遠藤克昭, 東 高志, 中井隆介, 堤 定美, 瀧川敏算, 黒澤 尚, 中村達雄: 長い神経欠損に対応可能な人工神経の開発. 第 10 回日本組織工学会(2007.11.8-9. 東京)
- 市原理司, 稲田有史, 中田 顕, 遠藤克昭, 東 高志, 中井隆介, 堤 定美, 黒澤 尚, 中村達雄: 距離のある神経欠損に対する人工神経の開発. 第 29 回日本バイオマテリアル学会大会(2007.11.26-27. 大阪)
- 稲田有史, 中村達雄, 諸井慶七郎: 手指神経因性疼痛ならび複合性局所疼痛症候群に対する局所神経損傷所見と手術治療成績. 第 50 回日本手の外科学会学術集会(2007.4.19-20. 山形)
- 稲田有史, 中村達雄, 諸井慶七郎, 高倉義典, 古家 仁, 遠藤克昭: 神経因性疼痛に対する生体内再生治療の問題点. 第 80 回日本整形外科学会学術総会(2007.5.24-27. 神戸)
- 稲田有史, 中村達雄, 諸井慶七郎, 橋爪圭司, 古家 仁: CRPS type I に合併した手熱傷瘢痕拘縮例の今後について. 第 15 回奈良手の外科懇話会(2007.6.9. 奈良)
- 稲田有史, 中村達雄, 諸井慶七郎, 渡邊恵介, 橋爪圭司, 古家 仁: CRPS type I に対する外科的治療 各論 1: 足関節捻挫後 CRPS type I の病態と治療. 第 41 回日本ペインクリニック学会(2007.7.5-7. 神戸)
- 稲田有史, 中村達雄, 諸井慶七郎, 橋爪圭司, 古家 仁, 森本 茂, 遠藤克昭: Polyglycidic-Collagen (PGA-C) tube による末梢神経再生の臨床. 第 18 回日本末梢神経学会学術集会(2007.8.24-25. 弘前)
- 稲田有史, 中村達雄, 森本 茂, 諸井慶七郎, 橋爪圭司, 古家 仁: 光. 第 6 回日本整形外傷セミナー(2007.9.1-2. 岩手)
- 稲田有史, 中村達雄, 遠藤克昭, 諸井慶七郎, 古家 仁, 矢島弘嗣, 高倉義典: 膝関節手術後に続発した慢性伏在神経因性疼痛に対する外科的治療. 第 34 回日本マイクロサージャリー学会学術集会(2007.10.18-19. 福島)
- 稲田有史, 中村達雄, 諸井慶七郎, 橋爪圭司, 古家 仁: 神経因性疼痛ならびに複合性局所疼痛症候群に対する生体内再生治療の適応と問題点. 第 27 回日本臨床麻酔学会(2007.10.25-27. 東京)
- 梅田裕生, 金丸真一, 山下 勝, 末廣 篤, 大野恒久, 田村芳寛, 平野 滋, 中村達雄, 大森孝一, 伊藤壽一: 骨再生誘導法を取り入れた組織工学的犬頭蓋骨再生. 第 28 回日本炎症・再生医学会(2007.8.2. 東京)

- Umeda, H., Kanemaru, S., Yamashita, M., Suehiro, A., Tamura, Y., Hirano, S., Nakamura, T., Omori, K., Ito, J.: Tissue engineered canine cranial bone regeneration with the concept of guided bone regeneration. 2007 TERMIS-EU Meeting (2007.9.4-7. London)
- 梅田裕生, 金丸眞一, 山下 勝, 田村芳寛, 大野恒久, 末廣 篤, 平野 滋, 中村達雄, 大森孝一, 伊藤壽一: 骨再生誘導法を取り入れた犬頭蓋骨再生. 第10回日本組織工学会(2007.11.8-9. 東京)
- Ohno, T., Hirano, S., Kanemaru, S., Tamura, Y., Yamashita, M., Umeda, H., Suehiro, A., Nakamura, T., Ito, J.: Hepatocyte growth factor dyug delivery system for the treatment of vocal fold scarring in a canine model. The 2007 annual meeting of the American Broncho-Esophagological Association. (2007.4.27. San Diego)
- Kanemaru, S., Yamashita, M., Umeda, H., Ohno, T., Suehiro, A., Hirano, S., Tamura, Y., Omori, K., Nakamura, T., Ito, J.: Behavior of implanted bone marrow derived stromal cells. 2007 TERMIS-EU Annual Meeting (2007.9. 4-7. London)
- Kanemaru, S., Nakamura, T., Yamashita, M., Umeda, H., Ohno, T., Hirano, S., Ito, J., Omori, K.: The behavior of the autologous bone marrow derived stromal cells implantation in the vocal fold on healing process. The 2007 annual meeting of the American Broncho-Esophagological Association. (2007.4.27. San Diego)
- Kanemaru, S., Yamashita, M., Umeda, H., Ohno, T., Suehiro, A., Hirano, S., Omori, K., Nakamura, T., Ito, J.: The Destiny and the behavior of the autologous bone marrow derived stromal cells implanted into the vocal fold. CDB symposium 2007 (2007.3.26. Kobe)
- 佐藤寿彦, 中村達雄: 新しい内視鏡手術用縫合支援器具の開発. 第20回近畿内視鏡外科研究会(2007.9.8. 大阪)
- 佐藤寿彦, 中村達雄, 高橋鮎子, 陳豊史, 阪井宏彰: 慢性閉塞性肺疾患に対する新しい外科的治療法の可能性. 第10回伊豆レスピロロジーフォーラム(2007.8.24. 伊豆)
- Sato, T., Araki, M., Ichihara, S., Fukuda, S., Nakamura, T.: A tissue-engineered prosthesis for the replacement of the left main bronchus. International Symposium on Regenerative Medical Therapy (2007.9.19-20. Kyoto)
- 茂野啓示: Periodontal-Restorative interface with a special emphasis on esthetics. 韓国歯周病学会(2007.5.19 釜山)
- 茂野啓示: Implant Prosthodontics (single tooth). (社)日本補綴歯科学会・グレート・ニューヨーク補綴歯科学会ジョイントミーティング(2nd Joint Meeting of the Japan Prosthodontic Society and the Greater New York Academy of Prosthodontics) (2007.10.21. 東京)
- 茂野啓示: インプラント上部構造作製について(軟組織と調和した歯冠外形を考慮して). 第37回(社)日本口腔インプラント学会・学術大会(第25回(社)日本口腔インプラント学会九州支部総会・学術大会併催)(The 37th Academic Conference of the Japanese Society of Oral Implantology Jointed with the The 25th Academic conference of the Japanese Society of Oral Implantology Kyushu Branch) (2007.9.16. 熊本)
- Suehiro, A., Kanemaru, S., Kishimoto, Y., Kitani, Y., Umeda, H., Tamura, Y., Hirano, S., Nakamura, T., Ito, J.: Bacterial cellulose: a new biomaterial for mucosal regeneration of trachea. TERMIS-EU 2007 (2007.9.4-7. London)
- 末廣 篤, 金丸眞一, 岸本 曜, 木谷芳晴, 梅田裕生, 田村芳寛, 平野 滋, 中村達雄, 伊藤壽一: バクテリアルセルロースを用いた組織工学的気管粘膜再生の試み. 第59回日本気管食道科学会総会ならびに学術講演会(2007.11.1-2. 前橋)
- 末廣 篤, 金丸眞一, 岸本 曜, 木谷芳晴, 梅田裕生, 田村芳寛, 平野 滋, 中村達雄, 伊藤壽一: バクテリアセルロースを用いた早期気管粘膜再生の試み. 第10回日本組織工学会(2007.11.8-9. 東京)
- 田村芳寛, 金丸眞一, 平野 滋, 山下 勝, 梅田裕生, 末廣 篤, 木谷芳晴, 岸本 曜, 中村達雄, 伊藤壽一: 自

- 己骨髓由来間葉系細胞を用いた口蓋骨再生. 第 10 回日本組織工学会(2007.11.8-9. 東京)
- 中島 晋, 中村達雄, 吉川徹二, 阪倉長平, 大辻英吾, 萩原明於, 山岸久一: Collagen-Grafted Mesh を用いた肝外胆管再生の試み. 第 107 回日本外科学会定期学術集会(2007.4.11-13. 大阪)
- Nakashima, S., Nakamura, T., Yoshikawa, T., Sakakura, C., Otsuji, E., Hagiwara, A., Yamagishi, H.: Long-term results of biliary reconstruction using polypropylene mesh-collagen tubes. TERMIS(2007.6.13-16. Toronto)
- 中島 晋, 中村達雄, 吉川徹二, 中島直喜, 須賀井 一, 玄 丞然, 上田祐二, 大辻英吾, 萩原明於, 山岸久一: 新規生体分解性接着剤による肝切離面止血効果についての検討. 第 62 回日本消化器外科学会定期学術総会(2007.7.18-20. 東京)
- 中瀬有遠, 中村達雄, 中島 晋, 吉川徹二, 阪倉長平, 大辻英吾, 上田祐二, 筏 義人, 山岸久一, 萩原明於: 食道癌治療における胸部食道再生の可能性. 第 62 回日本消化器外科学会定期学術総会(2007.7.18-20. 東京)
- Nakada, A., Fukuda, S., Ichihara, S., Itoi, S., Endo, K., Nakamura, T.: Regeneration of central nervous tissue using a collagen scaffold and adipose-derived stromal cells. XXXIV. Conference of European Society for Artificial Organs(2007.9.5-8. Krems)
- Nakada, A., Fukuda, S., Ichihara, S., Itoi, S., Inada, Y., Endo, K., Nakamura, T.: Regeneration of central nervous tissue using a collagen scaffold and adipose-derived stromal cells. International Symposium on Regenerative Medical Therapy(2007.9.19-20. Kyoto)
- 中田 顕, 福田正順, 市原理司, 糸井真一, 稲田有史, 遠藤克昭, 中村達雄: Regeneration of central nervous tissue using a collagen scaffold and adipose-derived stromal cells. 第 10 回日本組織工学会(2007.11.8-9. 東京)
- 野本幸男, 岡野 渉, 多田靖宏, 小林 謙, 和田郁夫, 中村達雄, 渡邊 睦, 大森孝一: 線維芽細胞を付加した bioengineered trachea. 第 10 回日本組織工学会(2007.11.8-9. 東京)
- 松野智宣, 橋本典也, 小俣和彦, 山内由隆, 安達清太, 尾関泰之, 梅津義一, 中村達雄, 中村正明, 佐藤田鶴子: 局所注入型骨補填材 bTCP ピーズ/アルジネート複合体を用いた骨再生. 第 10 回日本組織工学会(2007.11.8-9. 東京)
- 森野茂行, 赤嶺晋治, 村岡昌司, 持永浩史, 辻 浩一, 鳥羽紀成, 中村達雄, 永安 武: 肺気腫に対する FGF-2 を用いた非侵襲的肺容量減少術の実験的検討. 第 107 回日本外科学会定期学術集会(2007.4.11-13. 大阪)
- 諸井慶七郎, 稲田有史, 渡辺恵介, 藤原亜紀, 井上聡己, 橋爪圭司, 古家 仁, 中村達雄: 遊離血管柄付き組織移植と PGA-C tube を必要とした橈骨神経損傷後 CRPS type II の治療経験. 第 37 回日本ペインクリニック学会関西地方会(2007.6.23. 大坂)
- 諸井慶七郎, 稲田有史, 中村達雄, 藤原亜紀, 井上聡己, 渡辺恵介, 橋爪圭司, 古家 仁: Painful legs&moving toes 様症状を呈した CRPS に対して手術療法が著効した 1 症例. 第 42 回日本ペインクリニック学会(2007.7.5-7. 神戸)
- 諸井慶七郎, 稲田有史, 中村達雄: CRPS type I と診断されていた正中神経障害・尺骨神経障害合併症例. 第 15 回奈良痛みの治療研究会(2007.11.22. 奈良)
- 山中敏彰, 小林武彦, 村井孝行, 細井祐司, 稲田有史, 中村達雄: 人工神経(PGA-collagen tube)を用いた鼓索神経再建症例. 第 30 回日本顔面神経研究会(2007.5.31-6.1. 名古屋)
- 劉 愉, 王 群, 鄭 如恒, Nakamura Tatsuo: 不使用免疫抑制剤の冷凍保存気管同種移植の実験研究. 中華医学会第 7 次全国胸心血管外科学術会議(2007.11.15-18. 蘇州)

2) 講演・シンポジウム

中村達雄：生体内再生 (in situ Tissue Engineering) 技術の臨床応用，第 48 回日本組織細胞化学会総会・第 39 回日本臨床分子形態学会総会 合同学術集会シンポジウム (2007.9.28-29, 甲府)

中村達雄：再生医療の現状と近未来，福島県立医科大学・平成 19 年度学術講演会 (2007.10.22, 福島)

稲田有史：下肢重度開放性骨折に対する Microsurgical reconstruction (MR)，第 13 回救急整形外傷シンポジウム (EOTS) (2007.3.15-18, 北海道)

附属再生実験動物施設

Laboratory of Animal Experiments for Regeneration

施設長・教授 坂口 志文

Acting Head, Prof. Shimon Sakaguchi

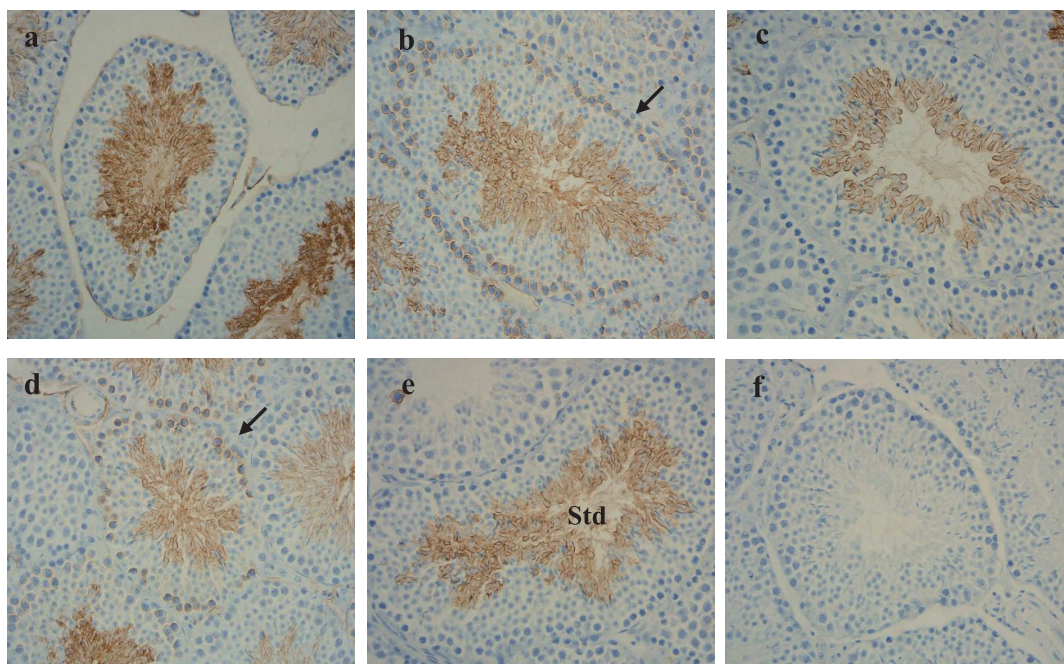
【再生実験動物施設の現状について】

附属再生実験動物施設では、2007年11月30日までに、イヌ；約150頭、ネコ；6匹、サル；5頭、ウサギ；約100羽、チンチラ；5匹、ラット；約500匹、マウス；約15000匹が実験動物として飼育され、実験に供されている。これらの実験動物の日常的な飼育・管理を専任准教授1名・技術職員1名・非常勤職員19名で行っている。

当研究所で動物実験を行うにあたっては、生命倫理・動物福祉に十分な理解と配慮をして実施する事が大前提である。この原則を周知・徹底させるため、動物実験に従事する者は、動物実験に関する法規制・内規、動物実験実施にあたっての原則、実験動物の取り扱い方等についての所内講習を受講することが義務付けられている。南部総合研究実験棟・動物飼育室を利用する者は、これに加えて、SPF(Specific Pathogen Free)マウスの取り扱いについて講習を受けなければならない。動物実験を実施するには、動物実験計画書を当研究所の動物実験委員会に提出し、厳格な審査を受け承認を得ることが必要である。

南部総合研究実験棟(2002年12月設置、再生医科学研究所、ウイルス研究所、医学部の3部局による共同研究実験棟)マウス飼育室は稼動を開始してから3年が経過した。現在、SPFマウス飼育室・全16室中、再生研；11室、ウイルス研；4室、医学部；1室、を使用している。本マウス飼育棟ではSPFマウスのみが飼育され、動物実験が行われている。搬入できるマウスは、指定実験動物供給業者から購入可能なSPFマウス及び当施設等において体外受精・受精卵移植によるクリーンアップを受けSPF化されたマウスのみ限定されている。また、飼育室に持ち込む生物試料(細胞・血清等)も、事前に当施設による検疫を受けることが義務付けられた。これらの厳格な管理の下、現在までのところ、感染事故等の深刻な問題は起きていない。ただ、共同実験棟マウス飼育室においては、SPFマウスの微生物汚染を防止するためには、動物飼育員、利用者各人の十分な注意が必要であるが、多数の人間が出入りする以上、いつ何時汚染事故が生じるかしのれない。不幸にして、幾つかの他校動物実験施設で微生物汚染事故が発生したことが報告されている。それらの苦い経験から、SPFマウスの微生物汚染の発生原因、汚染拡大様式、汚染除去法などを十分に学び、万一汚染が生じた時のことも想定し、汚染を最小限度に封じ込める等の対策について、本動物施設でも予め具体的な方策を立てておくことが必要であろう。一方、稼働し始めて明らかとなってきた設計、建築、設備上の種々の問題点、すなわち、室温・風量制御、凍結防止対策の不備等も徐々に把握されつつあり、対応可能になってきた。また、施設運営に関しても、3部局共同の建物であるため、当初、運営・予算の執行における困難さが指摘されてきたが、試行錯誤ながらも克服されつつある。ただ、独立法人化後の運営交付金の削減により、安定した施設運営が困難になりつつあり、このような恒常的施設運営のための別枠の予算措置が講じられることを期待するものである。

東館動物施設は、副施設長による管理のもと、時代の要請に適合した飼育施設に変貌しつつある。すなわち、指紋認証制による利用者登録の導入、サル飼育室の改良、遺伝子改変動物飼育に適合したマウス・ラット室の改造等である。また、イヌについても、飼育数と出入の厳密な把握により、スムーズな登録と狂犬病予防注射が可能に



マウス精巣における tACE タンパク質の局在

- a. 野生型 tACE 導入 Tg マウス
- b. 変異型 tACE 導入 Tg マウス家系 1
- c. 変異型 tACE 導入 Tg マウス家系 2
- d. 変異型 tACE 導入 Tg マウス家系 3
- e. 非 Tg マウス
- f. ACE ノックアウトマウス

矢印：精原細胞での異所性発現

Std：精子細胞

なった。しかしながら、施設・備品の老朽化が進行しつつあり、問題発生時に、まさに自転車操業的に対応しているのが現状である。また、毎年度予算的にも逼迫しており、このような対応がいつまで続けられるか予測不能である。今後は、南部棟動物施設と同様の受益者負担システムのさらなる導入と将来の大規模な改装を念頭においた施設運営が望まれる。

【研究概要】

再生実験動物施設は、再生医科学研究所の附属施設として、研究実施に不可欠である動物実験に関する全般的な管理業務(再生研の動物実験計画書の審査に関係する業務、動物実験に関する講習会の開催、再生研における実験動物の維持、管理など)と共に、一研究分野として以下の研究活動を行っている。

研究テーマ 1. GPI アンカー型蛋白質の代謝メカニズムと受精

現在の当研究室のメインテーマは、膜結合蛋白質の一種であるグリコシルフォスファチジルイノシトール(GPI) アンカー型蛋白質の代謝メカニズムの解明とその生殖細胞系列での生物学的意義の探究である。このため、まず、個体内での GPI アンカー型蛋白質の局在を網羅的に解析するために、GPI アンカー型 GFP レポーター蛋白質(EGFP-GPI)を構築した。これを導入したトランスジェニックマウスでは、予想以上に EGFP-GPI が、外分泌腺や精巣において遊離していることを見出した(Kondoh G. et al. *FEBS lett.* 458, 299-303, 1999)。以後、この現象に特に着目し、マウス精巣生殖細胞より GPI アンカー型蛋白質遊離因子の精製・構造解析を行った。その結果、この

因子のひとつとしてアンギオテンシン変換酵素(ACE)を単離した。すなわち、この酵素には、アンギオテンシン I やブラディキニンなどの昇圧ペプチドの活性を制御するのみならず、多くの GPI アンカー型蛋白質を細胞膜より遊離する新たな活性を持つことが明らかとなった。また、今回同定した活性は、ジペプチジルカルボキシペプチダーゼとしてこれらのペプチドを分解するための活性中心とは別の部位に位置し、また、GPI アンカー型蛋白質のペプチド部分ではなく、GPI アンカーそのものを切断することも突き止めた。一方、ACE ノックアウトマウスでは、精子-透明体結合不全による雄性不妊が知られている。そこで、このマウスの精子をジペプチダーゼ不活性型 ACE で処理したところ受精能が回復した。このことから、ACE は *in vivo* で GPI アンカー型蛋白質遊離活性(GPIase)があり、この活性をもって受精に重要な役割を担っていることが示唆された(Kondoh G. et al. *Nat. Med.*, 11, 160-166, 2005)。そこで、我々は、ACE の受精における機能をさらに追究するためジペプチダーゼ不活性型 tACE(精巣型アイソフォーム)を導入したトランスジェニックマウス(Tg マウス)を作出した。その結果、作出した Tg マウス家系のいずれにおいても体外受精における受精率の低下および精子-卵透明帯結合の障害がみられた。また、同マウスの精巣、精巣上体内での GPIase 活性およびジペプチダーゼを測定したところ、精巣上体内でのジペプチダーゼ活性が特異的に低下していた。このことから、変異型 tACE は精巣上体でいわゆるドミナントネガティブ分子として作用していると考えられた(Deguchi E. et al. *Biol. Reprod.*, 77, 794-802, 2007)。すなわち、tACE は、GPI アンカー型蛋白質遊離活性により精子上で機能すると同時に精巣上体内においてジペプチダーゼとして機能し、二元的に受精に関与していることが示唆された。

研究テーマ 2. 遺伝子改変マウス作出技術の簡易化

遺伝子改変マウスの作出には、何段階ものプロセスが存在し、多くの時間・労力・経費を必要とする。なかでも特に問題になるのが、ターゲティングベクターの作製、ES 細胞の培養そしてキメラマウス作出の諸段階であろう。我々は、これらのステップにおける“時間と労力のかからない技術の採用や改良”を心掛けてきた。ターゲティングベクターの作製においては、BAC クローンに基づく大腸菌内組み換えシステム(リコンビネーリング)を採用し、従来に比べて四分の一の時間短縮に成功した。また、キメラマウスの作出においては、凝集法を改良し、高価なインジェクション機器の購入や煩雑なメインテナンスのいらぬ方法を可能にした(Kondoh G. et al. *J. Biochem. Biophys. Methods.*, 39, 137-142, 1999)。これらの技術集約のもとに、過去 3 年間で 9 件の遺伝子改変マウス作出に参加した。

The angiotensin-converting enzyme (ACE) plays a crucial role in male fertilization. Testicular ACE (tACE), the germinal specific isozyme expressed on different promoters, exclusively carries out the role of ACE in fertility, although the site and mode of action are not well known. To investigate the contribution of tACE in fertilization, we produced transgenic mouse lines carrying a dipeptidase-inactivated mutant. Although the transgenic mice showed normal blood pressure, kidney morphology, and fertility, reduced fertilization was observed after *in vitro* fertilization (IVF). The sperm-zona pellucida (ZP) binding was exclusively impaired in these lines, in a manner similar to that observed in Ace knockout mouse. The dipeptidase activity was reduced in epididymal ingredients but not in the testis. Furthermore, direct application of mutant protein did not suppress sperm-ZP binding of intact sperm during IVF, implying that the dipeptidase-inactivated mutant affects sperm modification in the epididymis for ZP binding. Our results indicate that the dipeptidase-inactivated tACE acts *in vivo*, suggesting that tACE contributes to fertilization as a dipeptidase at least in the epididymis.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Deguchi, E., T. Tani, H. Watanabe, S. Yamada, and G. Kondoh : Dipeptidase-inactivated tACE action *in vivo* : selective inhibition of sperm-zona pellucida binding in the mouse. *Biol. Reprod.*, 77 : 794-802 (2007).

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

近藤 玄, 出口央士, 谷 妙子, 渡邊仁美, 山田秀一 : ジペプシダーゼ欠損型アンギオテンシン変換酵素(ACE)を用いた精子機能解析. 第30回日本分子生物学会・第80日本生化学会合同大会 (2007. 12.11-12.15, 横浜市)

2) 講演・シンポジウム

Kondoh, G. : Angiotensin-converting enzyme in fertilization : involvement of GPI-anchored protein releasing and dipeptidase activities. Japan-Switzerland 2nd Joint Seminar on Synthesis and Trafficking of Glycolipids and Glycolipid-anchored Proteins. (2007. 2. 2. Tsukuba).

(文責 ; 近藤 玄)

附属幹細胞医学研究センター Stem Cell Research Center

霊長類胚性幹細胞研究領域 Laboratory of Embryonic Stem Cell Research

分野主任 准教授 末盛 博文

Assoc. Prof. Hirofumi Suemori

【研究概要】

ヒト ES 細胞株の樹立と特性解析

霊長類胚性幹細胞研究領域ではヒト及び他の霊長類 ES 細胞の医療応用を目指した基盤研究を行っている。我々が樹立したヒト ES 細胞株は 2004 年 3 月に分配を開始し、これまでに 30 件以上の研究計画に対して細胞株の分配を行った。

イギリス Sheffield 大学などの機関を中心とした International Stem Cell Initiative において、ヒト ES 細胞の医療応用に際して必要となる特性解析の標準化等が進められており、我々もこの共同研究に参加した。この国際的なヒト ES 細胞比較解析研究では、未分化特異的遺伝子や分化マーカー遺伝子の発現量の定量、インプリンティング遺伝子についてその発現安定性、細胞表面抗原の FACS 解析および免疫組織染色、テラトーマの組織学的解析が世界各国の約 60 の細胞株について行われ結果の比較検討が行われた。その結果、我々が保有する細胞株はヒト ES 細胞として標準的な特性を有していることが明らかになった。

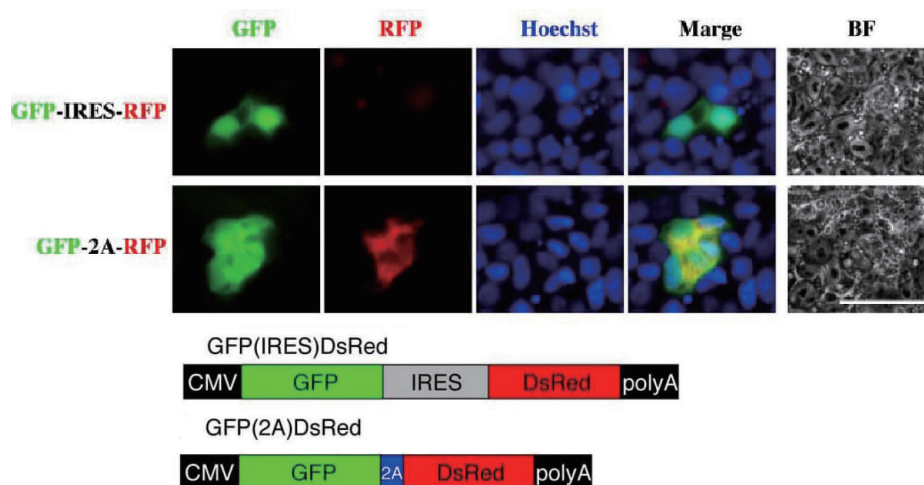
MYC のヒト ES 細胞の未分化性維持への関与

マウス ES 細胞の自己複製に重要な機能を持つことが知られている因子として LIF が知られている。LIF はその受容体を介して STAT3 をリン酸化し、さらに STAT3 は Myc 遺伝子の転写を活性化することにより自己増殖を維持していると考えられており、c-Myc を人為的に誘導することで LIF 非依存的にマウス ES 細胞は増殖可能である。C-Myc のヒト ES 細胞の自己増殖における働き解析するために誘導型 c-MYC を ES 細胞に導入しその効果を調べた。MYC の活性化によりヒト ES 細胞でもその自己増殖が指示されるものと期待していたが、予想に反して MYC の活性化は ES 細胞の分化と細胞死を誘導することがわかった。これによりマウスとヒトの ES 細胞での自己増殖の分子機構に違いがあることが明らかにされた。

ヒト ES 細胞での複数遺伝子産物の効率的な産生技術の開発

ヒト ES 細胞の利用において各種の遺伝子改変技術は非常に有用な基盤技術である。遺伝子改変において単一のプロモーターから複数の遺伝子を効率よく発現させたい場合がしばしばあり、そのような目的に IRES(internal ribosome entry site)がよく用いられている。しかしながら ES 細胞では IRES が効率よく機能せず、下流側の遺伝子産物の産生効率が非常に悪いことが知られており、これに代わる方法の開発が必要と考えられてきた。そこで我々は、Foot and mouth disease virus の 2A 配列に着目しその機能をヒト ES 細胞で評価した。その結果 IRES を用いた場合には下流側遺伝子の発現は上流側遺伝子の 10% 以下しか翻訳されないのに対し、2A 配列を用いた場合には 90

%以上の効率で翻訳されていることがわかった(図)。2A 配列は非常に有効であり、未分化 ES 細胞だけでなく、分化細胞においても効率よく機能することがわかり、本システムはさまざまな目的で利用可能であると考えられる。



図：2A 配列を利用した複数タンパク質の効率的な産生

Laboratory of Embryonic Stem Cell Research, Stem Cell Research Center.

Establishment and analysis of human ES cell lines.

Embryonic stem (ES) cell lines are pluripotent stem cell lines which can be propagated indefinitely in culture retaining their differentiation potency into every cell types of tissues in the body. Since establishment of human ES cell lines were reported, clinical use of functional tissues and cells from human ES cells are expected. In Japan, there have been many demands for use of human ES cells on basic and pre-clinical researches. We started to establish human ES cell lines using donated frozen embryos in January 2003 and successfully established three human ES cell lines. We have distributed these cell lines to over 30 laboratories. As an international collaboration, the International Stem Cell Initiative performed comparable characterization of 59 human embryonic stem cell lines including 3 cell lines of our own. Cell lines were examined for their expression of undifferentiated and differentiation markers, contamination of pathogenic agents and differentiation potency. Our hES cell lines were revealed to possess standard characteristics as undifferentiated hES cells.

Function of MYC on the self-renewal of human ES cells.

The cellular oncogene product Myc has been shown as a key downstream transcriptional factor of the LIF-STAT3 signaling to support mouse ES cell self-renewal, and plays a crucial role in the reprogramming as one of four factors that give rise to induced pluripotent stem cells. To examine the requirement of Myc for maintaining hES cell self-renewal, we generated hES cells with an inducible Myc estrogen receptor (MycER) chimeric protein that is activated by 4-hydroxy-tamoxifen (4OHT). When MycER was activated, hES cells underwent caspase-dependent apoptosis and p53-independent differentiation into extraembryonic endoderm and trophectoderm lineages. In contrast, Δ MycER, lacking transcriptional activity, had no obvious those effects, indicating that transcriptional regulation by Myc has a critical role in Myc-induced differentiation of hES cells. Our results demonstrate that the activation of MycER does not support hES cell self-renewal, but rather results in differentiation.

Multicistronic expression of a transgene in human embryonic stem cells

Genetic modification of hES cells is valuable techniques for their use in regenerative medicine and drug discovery. Modifications can be effected using multiple transgenes by the use of a transgene containing a single-promoter-driven multicistronic protein expression cassette. Such a multicistronic expression cassette would enable the simultaneous expression of multiple genes. The internal ribosomal entry site (IRES) is widely used for multicistronic protein expression. Although it facilitates bicistronic protein expression when placed between adjacent genes in a single cassette, it was well known that efficiency of downstream gene translation is poor relative to the upstream gene in hESCs. For an alternative to the IRES, we applied the foot-and-mouth disease virus (FMDV) 2A segment for multicistronic protein expression. We found that 2A-mediated separation permitted efficient multicistronic expression of the transgene with almost the same amounts of encoded proteins in hESC. In addition, the multicistronic protein expression was retained in hESC-derived differentiated cells including all three germ layers by in vivo and in vitro differentiation assays. This technology may be a significant advance in the genetic engineering of hESCs and hESC-derived cells for purposes that require the reliable expression of multiple transgenes.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Ishii T, Yasuchika K, Machimoto T, Kamo N, Komori J, Konishi S, Suemori H, Nakatsuji N, Saito M, Kohno K, Uemoto S, Ikai I. Transplantation of Embryonic Stem Cell-derived Endodermal Cells Into Mice with Induced Lethal Liver Damage. *Stem Cells*. 25 : 3252-60. 2007
- Sone M, Itoh H, Yamahara K, Yamashita JK, Yurugi-Kobayashi T, Nonoguchi A, Suzuki Y, Chao TH, Sawada N, Fukunaga Y, Miyashita K, Park K, Oyamada N, Sawada N, Taura D, Tamura N, Kondo Y, Nito S, Suemori H, Nakatsuji N, Nishikawa S, Nakao K. Pathway for differentiation of human embryonic stem cells to vascular cell components and their potential for vascular regeneration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 27 : 2127-34. 2007.
- Senju S, Suemori H, Zembutsu H, Uemura Y, Hirata S, Fukuma D, Matsuyoshi H, Shimomura M, Haruta M, Fukushima S, Matsunaga Y, Katagiri T, Nakamura Y, Furuya M, Nakatsuji N, Nishimura Y. Genetically Manipulated Human Embryonic Stem Cell-derived Dendritic Cells with Immune Regulatory Function. *Stem Cells*. 25 : 2720-9. 2007
- The International Stem Cell Initiative*, Adewumi O, Aflatoonian B, et al. Characterization of human embryonic stem cell lines by the International Stem Cell Initiative. *Nat Biotechnol*. 25, 803-816 (2007)
- Sato H, Suemori H, Toguchida J, Iwata H. Recombinant Matrix Protein for Maintenance of Undifferentiated Primate Embryonic Stem Cells. *Tissue Eng*. 13, 1539-1547. 2007
- Hasegawa K, Cowan AB, Nakatsuji N, Suemori H. Efficient multicistronic expression of a transgene in human embryonic stem cells. *Stem Cells*. 25 : 1707-1712 (2007)
- Sumi T, Tsuneyoshi N, Nakatsuji N, Suemori H. Apoptosis and differentiation of human embryonic stem cells induced by sustained activation of c-Myc. *Oncogene*. 26 : 5564-5576. 2007

Hosseinkhani M, Hasegawa K, Ono K, Kawamura T, Takaya T, Morimoto T, Wada H, Shimatsu A, Prat SG, Suemori H, Nakatsuji N, Kita T. Trichostatin A induces myocardial differentiation of monkey ES cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 356 : 386-91. 2007

Shinoda G, Umeda K, Heike T, Arai M, Niwa A, Ma F, Suemori H, Luo HY, Chui DH, Torii R, Shibuya M, Nakatsuji N, Nakahata T. α 4-Integrin(+) endothelium derived from primate embryonic stem cells generates primitive and definitive hematopoietic cells. *Blood.* 109 : 2406-15. 2007

2) 総 説

長谷川光一・末盛博文「ヒト ES 細胞研究の現状と展望」蛋白質核酸酵素 52,256-263, 2007

◆ 学会等の講演 ◆

1) 学会・研究会発表

佐藤秀樹・末盛博文・戸口田淳也・岩田博夫. リコンビナント細胞外マトリックスタンパク質を用いたカニクイザル ES 細胞の未分化維持培養. 第 6 回日本再生医療学会(横浜, 3/14-3/15, 2007)

マウス ES 細胞由来内胚葉細胞を用いた細胞移植

石井隆道, 安近健太郎, 待本貴文, 末盛博文, 中辻憲夫, 斉藤美知子, 河野憲二, 猪飼伊和夫, 上本伸二 第 107 回日本外科学会学術集会(大阪, 4/11-4/13, 2007)

ヒト ES 細胞のエピジェノム解析

服部奈緒子, 末盛博文, 平林啓司, 八木慎太郎, Wei Li, Xiaole Shirley Liu, 大鐘 潤, 田中 智, 中辻憲夫, 塩田邦郎 第 1 回日本エピジェネティクス研究会(大阪 6/15-16, 2007)

Transplantation of embryonic stem cell-derived endodermal cells into mice with induced lethal liver damage. Takamichi Ishii, Kentaro Yasuchika, Takafumi Machimoto, Hirofumi Suemori, Norio Nakatsuji, Michiko Saito, Kenji Kohno, Shinji Uemoto, Iwao Ikai

KAORI YAMAUCHI, KOUICHI HASEGAWA, SHINICIRO CHUMA, NORIO NAKATSUJI and HIROFUMI SUEMORI. In vitro Germ Cell Differentiation from Cynomolgus Monkey Embryonic Stem Cells. 5th ISSCR Annual Meeting (Cairns, June 17-20, 2007)

Kouichi Hasegawa, Aaron B Cowan, Norio Nakatsuji & Hirofumi Suemori. Efficient multicistronic expression of a transgene in human embryonic stem cells. 5th ISSCR Annual Meeting (Cairns, June 17-20, 2007)

Tomoyuki Sumi, Norihiro Tsuneyoshi, Norio Nakatsuji, and Hirofumi Suemori. Apoptosis and Differentiation of Human Embryonic Stem Cells Induced by Sustained Activation of c-Myc. 5th ISSCR Annual Meeting (Cairns, June 17-20, 2007)

Keiichiro Suzuki, Kouichi Hasegawa, Kaoru Mitsui, Emi Aizawa, Haruka Shiiba, Hirofumi Suemori, Norio Nakatsuji, Ko Mitani. GENE EXPRESSION AND HOMOLOGOUS RECOMBINATION IN CYNOMOLGUS MONKEY EMBRYONIC STEM CELLS WITH HELPER-DEPENDENT ADENOVIRAL VECTORS. 10th Annual Meeting, American Society for Gene Therapy (Seattle, 5/30-6/3, 2007)

2) 講演・シンポジウム

末盛博文：ヒト ES 細胞株の樹立と医学研究への展開。」国立成育医療センター 2007.4.10

末盛博文「ヒト ES 細胞：基礎研究から臨床応用へ。」病理学会ワークショップ 2007.3.13

末盛博文「ヒト ES 細胞とその医学・創薬研究への応用」セルセラピーセミナー 2007.6.8

幹細胞分化制御研究領域 Laboratory of Stem Cell Differentiation

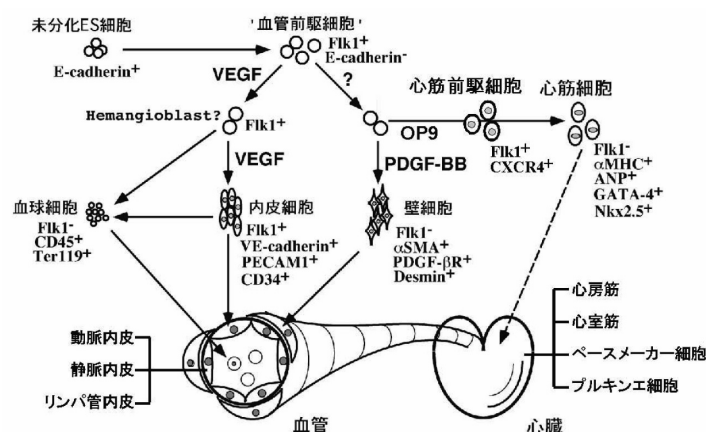
分野主任 准教授 山下 潤

Assoc. Prof. Jun K. Yamashita

【研究概要】

幹細胞分化制御研究領域では、ES 細胞(胚性幹細胞：embryonic stem cells)を用いて、心血管系の細胞分化・再生に関する研究を行っている。

ES 細胞は、全ての種類の細胞に分化することができるいわゆる「万能」幹細胞と考えられている。この全能性(pluripotency)を in vitro において引き出し、分化誘導した細胞を再生治療に用いようとする試みが様々な臓器、細胞をターゲットに行われている。我々は、ES 細胞を用いて中胚葉由来組織である血管および心臓の分化研究を行ってきた。



血管は、内腔を一層におおう内皮細胞とそれを外から取りまく壁細胞の2種類の細胞からなっている。その中を流れる血球細胞を含めてこれら血管構成細胞は互いに密接に関連しあい血管を形作る。VEGFの受容体の一つであるFlk1は血球・血管系細胞の最も早期の分化マーカーおよび中胚葉のマーカーと考えられている。我々は、ES細胞を用いて in vitro において中胚葉、さらには血管の構成細胞である血管内皮細胞と壁細胞(血管平滑

筋細胞およびペリサイト)を選択的に分化誘導し、最終的に血管としての高次構造を in vitro および in vivo において構築すること、いわば血管の発生過程を再現することに成功した(Yamashita, *Nature*, 2000.)。この in vitro 分化系では、Flk1 陽性細胞を共通の前駆細胞として、内皮細胞、壁細胞、血球細胞が分化し、さらにそれらの細胞が血管としての高次構造を形成する。また、中胚葉由来の細胞の一つである心筋細胞も同様に Flk1 陽性細胞から分化誘導することと共に新しい心筋前駆細胞の同定に成功している(Yamashita, *FASEB J*, 2005)。また最近では、動静脈リンパ管内皮細胞分化や心筋ペースメーカー細胞などさらに多様な心血管細胞の分化誘導を行っている(Yamashita, *Trends Cardiovasc Med*, 2007; Yanagi, *Stem Cells*, 2007 他)(図)

このように我々の ES 細胞を用いた in vitro 分化系は、心血管および血球という循環器系の細胞群を系統的に分化誘導することができ、心血管の発生分化過程を培養下に恣意的に操作しながらしかも経時的に観察できる。従って、この分化系を用いることにより心臓血管の発生分化のメカニズムを細胞レベル、分子レベルで検討し、ノックアウトマウスの形質解析に依存していた分化の分子機構の解析を in vitro で行うという新しいアプローチが可能になったと考えられた。

現在、この ES 細胞 in vitro 分化系を用いて、以下のようなプロジェクトを遂行及び予定している。

1. ES 細胞 in vitro 分化系を用いた血管細胞分化・多様化の分子機構の解析

- 1) DNA チップを用いた網羅的血管分化関連遺伝子の同定
- 2) RNA 干渉を用いた in vitro 遺伝子機能解析系の構築 (Hiraoka-Kanie, **Biochem Biophys Res Commun**, 2006)
- 3) 動静脈・リンパ管内皮特異的分化誘導と内皮細胞多様化機構の解析 (Yurugi-Kobayashi, **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 2006 ; Kono, **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 2006 ; Yamashita, **Trends Cardiovasc Med**, 2007)
- 4) 物理的刺激の血管内皮分化多様化における意義 (Yamamoto, **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, 2005).

2. 誘導血管細胞の血管再生への応用

- 1) 移植におけるドナー細胞の最適な分化段階の決定 (Yurugi-Kobayashi, **Blood**, 2003).
- 2) 移植細胞の遺伝子修飾による組織への動員、生着効率の改善効果の検討
- 3) 人工生体材料を用いた新しいハイブリッド人工血管の開発 (Huang, **J Artif Organ**, 2005).

3. ES 細胞からの心筋細胞の分化誘導

- 1) 2 次元培養による新しい ES 細胞からの心筋細胞分化誘導法の開発と新しい心筋前駆細胞の同定 (Yamashita, **FASEB J**, 2005).
- 2) 心筋細胞 in vitro 分化系を用いた心筋分化・多様化の分子機構の解析
- 3) ES 細胞由来心筋細胞自動形成機構の解析 (Yanagi, **Stem Cells**, 2007)
- 4) 新しい心臓再生治療への応用 —新しい心筋前駆細胞治療の開発—

4. 霊長類 ES 細胞からの心血管分化誘導

1) サル ES 細胞からの血管分化誘導

京都大学臨床病態医科学との共同研究により、サル ES 細胞からの血管分化誘導に成功した (Sone, **Circulation**, 2003).

2) ヒト ES 細胞からの血管分化誘導

京都大学臨床病態医科学申請の輸入ヒト ES 細胞を用いた血管分化研究に参画 (Sone, **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 2007 ; Yamahara, **PLoS One**, *in press*).

3) ヒト ES 細胞からの心筋細胞分化誘導

ヒト ES 細胞使用計画「ヒト ES 細胞を用いた心血管細胞分化機構に関する研究」(研究代表者・山下 潤, 平成 17 年 3 月 10 日文科科学大臣承認)

ヒト ES 細胞を用いた心血管分化研究を開始している。

5. 人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) を用いた心血管分化再生研究

(再生医科学研究所再生誘導研究分野との共同研究)

- 1) マウス iPS 細胞を用いた心血管分化系の構築
- 2) ヒト iPS 細胞からの心血管細胞分化誘導法の開発

Main theme of our research : Elucidation of cellular and molecular mechanisms of cardiovascular development and the application to cardiovascular regeneration using *in vitro* differentiation system of embryonic stem cells (and somatic cells).

Previously, we established a novel *in vitro* vascular differentiation system of ES cells (Yamashita, *Nature*, 2000). Using ES cell-derived Flk1 (VEGF receptor-2)-positive mesodermal cells as starting material, we can induce all of the vascular cellular compartments, that is, endothelial cells, mural cells (vascular smooth muscle cells and pericytes) and blood cells. Vessel-like structures of endothelial cell tube with mural cell attachment and blood cell inside are formed from Flk1+ cell aggregates in 3-D culture. Thus, this *in vitro* system should reproduce the early process of vascular development. And we also demonstrated that the transplanted vascular cells induced by this system could contribute to developing vasculature *in vivo*. Moreover, we have succeeded in inducing cardiomyocytes from Flk1+ cells, and identifying a novel cardiac progenitor cells (Yamashita, *FASEB J*, 2005). Recently, we succeeded in inducing arterial, venous, and lymphatic endothelial cells (Yamashita, *Trends Cardiovasc Med*, 2007 etc). All of cardiovascular cellular components, thus, could be induced in our *in vitro* differentiation system. (Fig. 1).

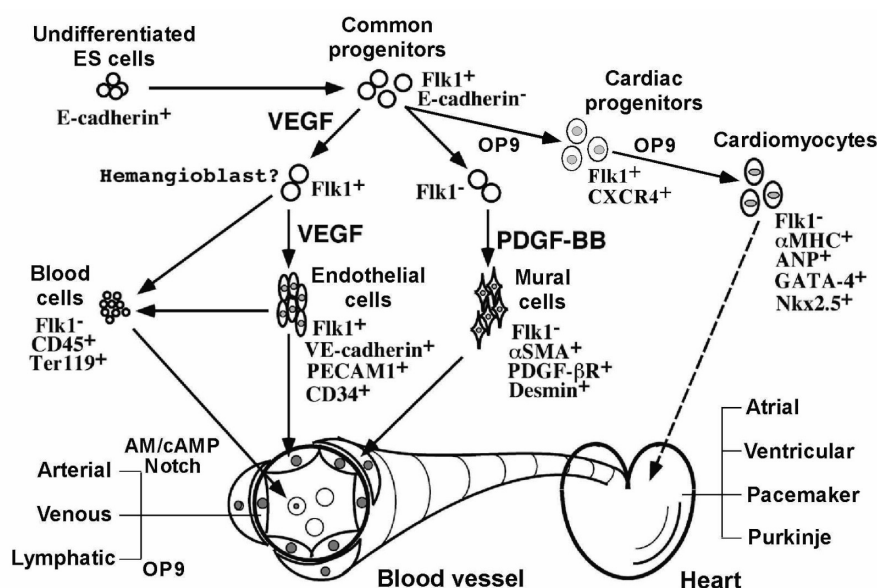


Fig. 1 : Cardiovascular development in ES cell *in vitro* differentiation system

In this system, we can manipulate the fate of cell differentiation, observe the behavior of differentiating cells, purify and obtain cells at various differentiation stages. This system provides us possibilities to dissect the mechanisms of cardiovascular development from new aspects, and offers novel potentials for cardiovascular regeneration.

Research Projects :

1. Elucidation of cellular and molecular mechanisms of vascular cell differentiation and specification using ES cell *in vitro* differentiation system.
 - 1) Comprehensive molecular cloning of genes for endothelial cell differentiation by global gene expression profile with DNA chip
 - 2) Novel *in vitro* functional assay system using vector-based siRNA expression (Hiraoka-Kanie, *Biochem Biophys*

Res Commun, 2006).

- 3) Specific induction of various endothelial cells types (i.e., arterial, venous, and lymphatic) and investigation of the mechanisms for endothelial specification (Yurugi-Kobayashi, **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 2006 ; Kono, **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 2006 ; Yamashita, **Trends Cardiovasc Med**, 2007).
- 4) Significance of rheological force on endothelial differentiation and diversification (Yamamoto, **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, 2005).

2. Application of induced vascular cells to vascular regeneration

- 1) Evaluation of appropriate differentiation stage of donor cells for cell transplantation. (Yurugi-Kobayashi, **Blood**, 2003).
- 2) Improvement of the efficacy of recruitment, contribution, and survival of donor cells, by modifying gene expressions in donor cells.
- 3) Development of novel hybrid vessels with ES cells and artificial scaffolds (Huang, **J Artif Organ**, 2005).

3. Cardiomyocyte induction from ES cells

- 1) Establishment of a novel cardiomyocyte induction system in 2-dimensional culture (Yamashita, **FASEB J**, 2005).
- 2) Dissection of cellular and molecular mechanisms of cardiomyocyte differentiation
- 3) Ion channels to reconstitute automaticity of ES cell-derived cardiomyocytes (Yanagi, **Stem Cells**, 2007)
- 4) Application to cardiac regeneration — Novel cardiac progenitor therapy

4. Cardiovascular differentiation using primates ES cells

- 1) Vascular cell differentiation from monkey ES cells (Sone, **Circulation**, 2003) (Collaboration with Department of Medicine and Clinical Sciences, Kyoto University Graduate School of Medicine).
- 2) Vascular cell differentiation from human ES cells (Sone, **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 2007 ; Yamahara, **PLoS One**, *in press*) (Collaboration with Department of Medicine and Clinical Sciences)
- 3) Cardiomyocyte differentiation using human ES cells
Our human ES cell research project “Research for differentiation mechanisms of cardiovascular cell differentiation using human ES cells” has been approved by the Science Ministry of Japan (2005.3.10).

5. Cardiovascular differentiation and regeneration using induced pluripotent

stem (iPS) cells (Collaboration with Department of Stem Cell Biology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University).

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

Yamahara K, Sone M, Itoh H, Yamashita JK, Yurugi-Kobayashi T, Homma K, Chao TH, Miyashita K, Park K, Oyamada N, Sawada N, Taura D, Tamura N, Nakao K. Augmentation of neovascularization in hindlimb ischemia by

- combined transplantation of human embryonic stem cells-derived endothelial and mural cells. **PLoS One**, *in press*
- Shimizu N, Yamamoto K, Obi S, Kumagaya S, Masumura T, Shimano Y, Naruse K, Yamashita JK, Igarashi T, Ando J. Cyclic strain induces mouse embryonic stem cell differentiation into vascular smooth muscle cells by activating PDGF receptor {beta}. **J Appl Physiol**, *in press*
- Matsuda M, Kobayashi Y, Masuda S, Adachi M, Watanabe T, Yamashita JK, Nishi E, Tsukita S, Furuse M. Identification of adherens junction-associated GTPase activating proteins by the fluorescence localization-based expression cloning. **Exp Cell Res**, *in press*
- Yanagi K, Takano M, Narazaki G, Uosaki H, Hoshino T, Ishii T, Misaki T, Yamashita JK*. Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels and T-type calcium channels confer automaticity of embryonic stem cell-derived cardiomyocytes. **Stem Cells**, 25 : 2712-2719, 2007.
- Sone M, Itoh h, Yamahara K, Yamashita JK, Yurugi-Kobayashi T, Nonoguchi A, Suzuki Y, Chao TH, Sawada N, Fukunaga Y, Miyashita K, Park K, Oyama N, Sawada N, Taura D, Tamura N, Kondo Y, Nito S, Suemori H, Nakatsuji N, Nishikawa SI, Nakao K. A pathway for differentiation of human embryonic stem cells to vascular cell components and their potential for vascular regeneration. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 27 : 2127-2134, 2007.
- Yamashita JK*. Differentiation of arterial, venous, and lymphatic endothelial cells from vascular progenitors. **Trends Cardiovasc Med**, 17 : 59-63, 2007.
- Kamo N, Yasuchika K, Fujii H, Hoppo T, Machimoto T, Ishii T, Fujita N, Tsuruo T, Yamashita JK, Kubo H, Ikai I. Two populations of Thy1-positive mesenchymal cells regulate the in vitro maturation of hepatic progenitor cells. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, 292 : G526-534, 2007.

和文総説

- 山下 潤. 「ES 細胞からの血管分化・多様化と血管再生」医学の歩み「Vascular Biology Update」223 : 960-965, 2007. 医歯薬出版
- 山下 潤. 「血管とリンパ管の分化と新生」炎症と免疫 15 : 37-42, 2007. 先端医学社
- 山下 潤. 「心血管細胞分化再生研究の最前線」治療・別冊「再生医学のいま」89 : 1733-1740, 2007. 南山堂
- 山下 潤. 「ヒト ES 細胞を用いた心血管細胞分化機構に関する研究」医学のあゆみ「ヒト ES 細胞研究のネクストステージ」220 : 175-180, 2007. 医歯薬出版

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

- Yanagi K, Uosaki H, Misaki T, Yamashita JK. Cardiac ion channels constituting automaticity of pacemakers in embryonic stem cell-derived cardiomyocytes. 第 71 回日本循環器学会 2007.3.17. 神戸
- Hiraoka-Kanie M, Yamashita JK. In vitro functional gene analysis using inducible short hair-pin RNA expression system in embryonic stem cells. 5th International Society for Stem Cell Research Annual Meeting 2007, 2007.6.17-20, Cairns, Australia

榑崎元太, 鷹野 誠, 柳 賢徳, 魚崎英毅, 山下 潤. ES 細胞由来心筋細胞の自動能を構成するイオンチャネルの解析. 第 28 回日本炎症再生医学会 2007.8.2. 東京

Narazaki G, Yanagi K, Takano M, Uosaki H, Hoshino T, Ishii T, Misaki T, Yamashita JK. Ion channels constituting automaticity of embryonic stem cell-derived cardiomyocytes. 京都大学再生医科学研究所・熊本大学発生学研究所・慶応大学医学部・理研 CDB Joint Forum. 2007.9.5-6, 神戸

Uosaki H, Narazaki G, Yanagi K, Takano M, Hoshino T, Ishii T, Misaki T, Yamashita JK. AUTOMATICITY AND ION CHANNELS IN CARDIOMYOCYTES DERIVED FROM EMBRYONIC STEM CELLS. IFMS International Symposium 2007. 2007.9.19-20. 京都

山下 潤, 平岡美奈, 魚崎英毅, 榑崎元太, 山水康平, 松永太一, 土戸康弘「ゲノムを操り臓器を作る. ーゲノム研究の再生医学応用ー」文部科学省科学研究費特定領域研究ゲノム 4 領域「ゲノムひろば 2007~最先端の生命科学が大集合」2007.10.13-14. 大阪

2) 講演・シンポジウム

山下 潤. ES 細胞研究に基づく新しい心血管再生治療戦略の開拓. 第 9 回循環器専門医懇話会(招請講演), 2007.1.20. 千葉

山下 潤. 動静脈リンパ管分化機構と血管選択的血管再生の可能性. 第 2 回北海道高血圧を考える会(招請講演). 2007.1.27. 札幌

山下 潤. ES 細胞を用いた心血管分化再生研究. 第 8 回分子病態制御研究会(招請講演). 2007.1.31. 大阪

Yamashita JK. Prospective identification of cardiac progenitors. 4th Annual Symposium of the American Heart Association Council on Basic Cardiovascular Sciences -Cardiovascular Repair and Regeneration. (Invited) 2007.7.30. Keystone, USA

山下 潤. ES 細胞を用いた構成的アプローチによる血管分化多様化機構の解析. 日本血栓止血学会シンポジウム 2007.11.16. 三重

山下 潤. ES 細胞を用いた新しい構成的アプローチによる血管分化多様化機構の解析と再構成. 第 30 回日本分子生物学会ワークショップ「血管リンパ管研究の新展開」(オーガナイザー) 2007.12.14. 横浜

幹細胞加工研究領域 Laboratory of Stem Cell Engineering

分野主任 准教授 多田 高
Assoc. Prof. Takashi Tada

【研究概要】

体細胞は機能的に特殊化した細胞である。ゲノム再プログラム化とは、体細胞の機能を規定するエピジェネティクスを消去し、未分化細胞のエピジェネティクスを新たに上書きする事により多能性を獲得する現象である。体細

細胞核移植クローン動物が応用例として知られる。我々は体細胞と胚性幹(ES; Embryonic Stem)細胞との細胞融合により体細胞核が再プログラム化され多能性を獲得することを発見した。この結果は、ES細胞が体細胞を再プログラム化する活性をもち、無限に増殖するES細胞から再プログラム化に必要な因子の同定が可能である事を明確に示している。近年、培養条件下で体細胞を多能性幹細胞化したヒトおよびマウス iPS(induced pluripotent stem)細胞の作製が成功し、再生医学のトピックとなっている。我々は、1)ゲノム再プログラム化分子機構の解明、2)幹細胞の未分化性維持機構の解明、3)ゲノム再プログラム化による体細胞の幹細胞化技術の開発を目指し研究を行っている。

ゲノム再プログラム化の分子機構) ES細胞との細胞融合による再プログラム化に伴い、体細胞ゲノムは特有の堅いクロマチンがゲノム全体で変化し、未分化細胞特有の緩いクロマチンに変化する。その過程は、体細胞エピジェネティクスの消去と未分化細胞エピジェネティクス確立の少なくとも2段階が必要と推測され、各プロセスに働く機構や因子の解析を行っている。クロマチン変化をヒストン置換の可視化によりとらえる事を目的に、ヒストン—GFP トランスジェニックマウスの作製を進めている。

ゲノム再プログラム化鍵因子 Nanog の働き) 細胞の未分化性維持に働く鍵因子として同定された *Nanog* 遺伝子は、ホメオドメインをもつ転写因子である。未分化細胞に特異的に発現する *Nanog* はゲノム再プログラム化に伴い、体細胞核から再活性化する。*Nanog* の発現は、転写開始点の上流に存在する Octamer/Sox 配列を介した他の未分化維持因子 Oct4 や Sox2(または Sox 関連因子)により制御されることを示してきた。また、*Nanog* 蛋白質は翻訳後に細胞内で高度にリン酸化されることを突き止めた。リン酸化は細胞周期の M 期に著しく、*Nanog* タンパク質の N 末端に存在するセリン残基が Cdk1 リン酸化酵素によって修飾されていた。リン酸化が *Nanog* の機能に重要な役割を果たす可能性が示された(図 1)。*Nanog* は初期胚のみならず生殖細胞での高発現が知られている。機能解明を目的に生殖細胞特異的な発現抑制実験系を用いて解析を進めている。

マウス融合細胞核からの染色体除去) ES細胞との細胞融合により体細胞ゲノムは再プログラム化され、ES細胞様に変化する。しかし、融合細胞は4倍体であるため2倍体化するための技術が望まれていた。我々は、融合細胞からES細胞由来の望んだ染色体を選択的に取り除く技術を開発した。ES細胞の取り除きたい染色体に組み換え

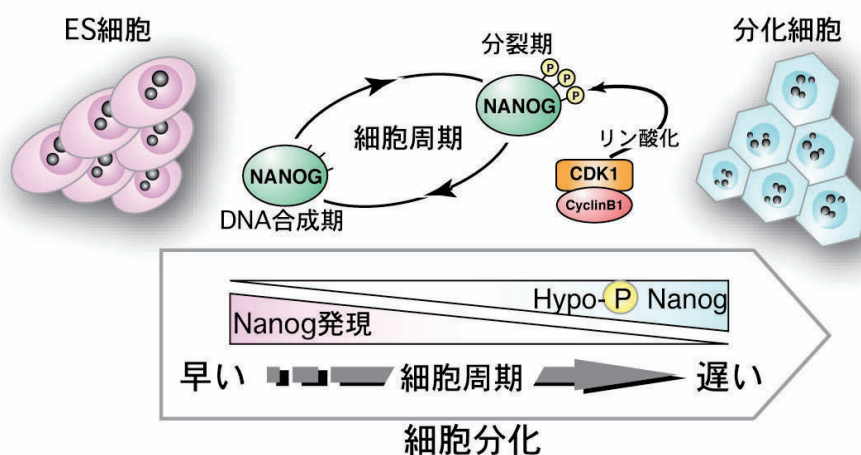


図 1. Nanog リン酸化の未分化性維持における役割の模式図

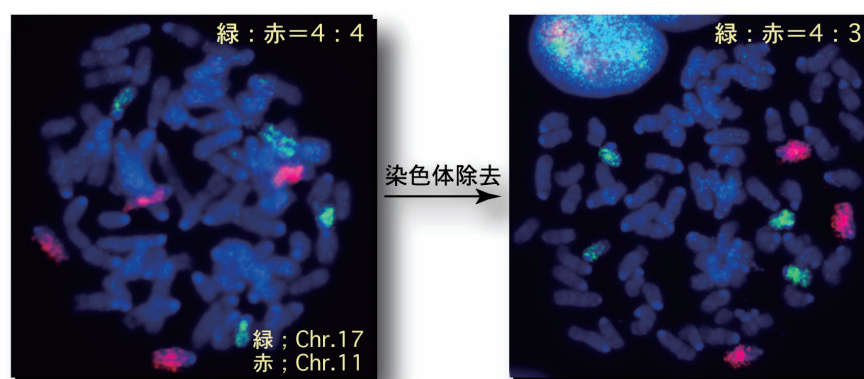


図2. 体細胞ゲノムの再プログラム化とES細胞染色体の選択的除去

DNA 配列(染色体除去カセット)を組み込む。このES細胞と体細胞を細胞融合した後に組み換え酵素で処理すると、DNA複製後にあたるS期後半やG2期に姉妹染色分体間で組み換えが起こる。組み換え染色体は細胞分裂に好ましくない形に変化し核から排除される。結果として、染色体除去カセットで印された染色体のみが融合細胞核から除去される(図2)。ES細胞由来の第6番染色体(Nanog遺伝子を運ぶ)を取り除き、体細胞由来の第6番染色体のみにした融合細胞でも未分化性が維持された。再プログラム化により再活性化した体細胞由来のNanogのみで融合細胞の未分化性を維持する事ができることを示した。開発された染色体除去法を用いて、融合細胞の2倍体化に挑んでいる。

Our body is built by an incredible variety of cell and tissue types, which develop from a single fertilized egg through embryogenesis. Those cells are basically classified into two types of cells; somatic cells and germ cells. Determination of cell fate is epigenetically regulated through activation or repression of specific genes. Nuclear reprogramming is a phenomenon that a specialized somatic cell acquires pluripotential competence, which is defined by multi-lineage differentiation, due to reset of epigenetic memory of the somatic cell. Recent development of a technology of embryo manipulations achieves epigenetic reprogramming by nuclear transplantation of a somatic cell to enucleated oocytes as seen by production of cloned animals in many mammalian species. We found that embryonic stem (ES) cells, which have the robust capability of self-renewal with pluripotency under culture conditions, retain the nuclear reprogramming activity as shown by cell fusion with a somatic cell. Cell fusion technology may, therefore, have potential to make an important contribution to personal therapeutic applications with no contribution of therapeutic cloning.

Reprogrammed somatic genomes through cell fusion with ES cells function equivalent to the ES genomes in differentiated cells. We have demonstrated that the acquisition of pluripotential competence by a reprogrammed somatic genome is accompanied, independent of gene activity, by global de-condensation of the somatic cell-derived chromatin. Thus, we have proposed that two epigenetic events; erasure of somatic cell memory and establishment of pluripotential cell memory are required to complete the nuclear reprogramming. To visualize kinetics of chromatin structure by the nuclear reprogramming, we have tried to make transgenic mouse and cell lines with living color gene-tagged histone and histone variants

Nanog is a homeodomain-bearing transcriptional factor identified as a pluripotential cell-specific gene. Our data clearly demonstrated that *Nanog* was essential for maintaining pluripotency of stem cells and inducing successful

nuclear reprogramming of somatic nuclei through cell fusion and nuclear transplantation. *Nanog* expression was controlled by an adjacent pair of highly conserved Octamer- and Sox-binding sites at about 200 bp upstream of the transcriptional starting site. Other important stem cell factors, Oct4 and Sox2 were capable of binding to the Octamer and Sox elements, respectively, indicating that *Nanog*, Oct4 and Sox2 are key players in maintaining pluripotency in the molecular network of stem cells. Interestingly, the *Nanog* protein was highly phosphorylated in a cell cycle-dependent manner. The serine residues clustered at the N-terminal of *Nanog* were phosphorylated in M phase of the cell cycle through the activity of the protein kinase of Cdk1.

Hybrid cells between ES cells (2n) and somatic cells (2n) are tetraploid (4n). To produce personalized diploid stem cells from the tetraploid hybrid cells, it is necessary to eliminate the ES cell-derived chromosomes once the somatic genome has been reprogrammed. To eliminate ES-derived chromosomes from hybrid nuclei, we newly designed a chromosome elimination cassette (CEC). Cre-mediated sister-chromatid recombination in late S and G2 phases of the cell cycle should generate di-centric and nulli-centric chromosomes specific to CEC-tagged chromosomes. Such aberrant chromosomes are spontaneously deleted from cells during cell division. Hybrid cells missing ES cell-derived chromosome 6 containing the *Nanog* gene indicated that the reprogrammed somatic cell-derived *Nanog* gene is sufficient for maintaining the undifferentiated state of hybrid cells.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Matsumura, H., Tada, M., Otsuji, T., Yasuchika, K., Nakatsuji, N., Tada, T. : Targeted chromosome elimination from ES-somatic hybrid cell nuclei. *Nature. Methods*, **4**, pp23-25 (2007)

2) 著 書

多田 高：ES細胞の多能性誘導能と融合細胞核のゲノム改変，「再生医療への新たな挑戦；多能性幹細胞の維持と誘導－初期化の制御機構とエピジェネティクス，万能細胞樹立の新技术まで」(山中伸弥企画)pp462-567(実験医学，**25** 巻 4 号，羊土社，2007)

3) 総 説

Matsumura, H., Tada, T. : Cell fusion-mediated nuclear reprogramming of somatic cells. BRMOnline (in press)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

Yamaguchi, S., Sasaki, H., Nakatsuji, N., Tada, T. : Molecular roles of *Nanog* in mouse germ cell development : International Symposium on Regenerative Medical Therapy (2007.9.19-20. Kyoto Japan)

松村寛行，多田政子，中辻憲夫，多田 高：再プログラム化融合細胞の MHC 個人対応化：第 79 回日本遺伝学会 (2007.9.19-21. 岡山)

尾辻智美, 松村寛之, 鈴木達也, 中辻憲夫, 多田 高, 多田政子: ES 融合細胞での Cre-inverted loxP システムによる早期染色体除去と欠失誘導: 第 79 回日本遺伝学会(2007.9.19-21, 岡山)

尾辻智美, 松村寛行, 鈴木達也, 中辻憲夫, 多田 高, 多田政子: ES 融合細胞での Cre-inverted loxP システムによる早期染色体除去と欠失誘導: 第 58 回日本染色体学会・第 17 回染色体コロキウム 2007 年合同年会(2007.11.26-28, 葉山)

尾辻智美, 松村寛行, 鈴木達也, 中辻憲夫, 多田 高, 多田政子: ES 融合細胞での Cre-inverted loxP システムによる早期染色体除去と欠失誘導: 第 30 回日本分子生物学会/第 80 回日本生化学学会合同大会 BMB2007(2007.12.11-15, 横浜)

山口新平, 佐々木裕之, 中辻憲夫, 多田 高: マウス Nanog の生殖細胞における役割: 第 30 回日本分子生物学会/第 80 回日本生化学学会合同大会 BMB2007(2007.12.11-15, 横浜)

2) 講演・シンポジウム

Matsumura, H., Yamaguchi, S., Hirano, K., Tada, T.: Chromatin reprogramming of somatic nuclei mediated by cell fusion with embryonic stem cells: International Symposium Function Organization of the Nucleus(2007.1.9-11, Awaji JAPAN)

松村寛行, 多田政子, 尾辻智美, 安近健太郎, 中辻憲夫, 多田 高: 体細胞融合細胞 ES 細胞核からの染色体除去: 特定領域研究「幹細胞の可塑性と未分化性維持機構」公開会議カッティングエッジレクチャー(2007.2.19-20, 東京)

多田 高: 再生医療と多能性幹細胞: 再生医療と先端技術の融合(2007.2.28, 京都)

多田 高: 体細胞を多能性幹細胞に変える新技術ー再プログラム化と染色体除去: 京大臨床心血管再生研究会ー第 5 回シンポジウムーキーノートレクチャー(2007.3.6, 京都)

Tada, T.: Cre-dependent elimination of loxP-tagged chromosomes from mouse ES-somatic hybrid cells: 23rd Radiation Biology Center International Symposium- Stem Cells and Their Chromosomes(2007.3.16-17, Kyoto JAPAN)

多田 高: 胚性幹(ES)細胞の体細胞再プログラム化能と応用: 発生工学・疾患モデル研究会ー第 62 回定例会「再生医療に向けて, 基礎から応用へ」(2007.4.5, 東京)

多田 高: 細胞の若返りー体細胞から万能細胞を作るー: 科学技術政策研究所シンポジウムー科学技術と社会をつなぐーナイスステップな研究者 2006 からのメッセージー(2007.4.13, 東京)

多田 高: 体細胞が万能幹細胞に変わる?ー再プログラム化の応用と問題点ー: 第 51 回 MMS 研究会特別講演(2007.6.15-16, 伊豆)

多田 高: ES 細胞はいかにして万能か: 国際生物学オリンピック(JBO)ハイスクールフォーラム「生物学研究の楽しさを語る」(2007.8.18, 大阪)

多田 高: 体細胞からの再プログラム化幹細胞ー細胞融合と染色体除去ー: 11th Molecular Cardiovascular Conference-Keynote Lecture-(2007.9.14-16, 小樽)

山口新平, 黒田貴雄, 中辻憲夫, 多田 高: 未分化性維持因子 Nanog の修飾と機能: 第 79 回日本遺伝学会ミニシンポジウム(2007.9.19-21, 岡山)

Tada, T.: Molecular Mechanisms of Nuclear Reprogramming by Cell Fusion: NRW Satellite Symposium “Reprogramming of Somatic Cells for the Therapy of Heart Disorders”(2007.10.9-10, Dusseldorf, GERMANY)

多田 高：再プログラム化とゲノム：クロマチン研究会 ―ゲノム・細胞核から個体発生まで― (2007.10.25-26, 三島)

Tada, T: Cell fusion-mediated Nuclear Reprogramming and Pluripotency Factor Nanog: Stem Cell Seminar in Institute for Stem Cell Research, University of Edinburgh (2007.11.28, Edinburgh, UK)

多田 高：ゲノム再プログラム化と細胞融合幹細胞：京都大学再生医科学研究所平成 19 年度学術講演会 (2007.12.26, 京都)

細胞プロセッシング研究領域 Laboratory of Cell Processing

客員教授 高橋 恒夫

Visiting Prof. Tsuneo A Takahashi

客員准教授 古江 - 楠田 美保

Visiting Assoc. Prof. Miho Kusuda Furue

【研究概要】

細胞プロセッシング研究領域は、ヒト ES 細胞の臨床応用を目指しその基盤技術の研究開発を行うべく、2005 年度に新設された部門である。ES 棟地下に細胞処理施設(CPC : Cell Processing Center)を設置し、その管理を行うとともに、臨床応用可能な医薬品 GMP に準拠したヒト ES 細胞リソースの供給を目指し、その基盤技術の研究開発を行っている。CPC は空調管理、清浄度管理、及び作業管理を含む、医薬品 GMP ハードに準拠した施設として、また CPC には、細胞調製室、閉鎖系として独立して細胞調製、培養が可能な Cell-processing Isolator システム、細胞保存室がある。

2007 年度は、CPC のヒト ES 細胞株の樹立研究施設としての政府による確認が行われたのに伴い、ヒト ES 細胞の樹立研究、培養試験を開始した。現時点では、霊長類胚性幹細胞研究領域により樹立されたヒト ES 細胞株を、在来培養手法を用いて培養試験を行っているが、順次、臨床レベルで使用するためのヒト ES 細胞株の樹立、培養、操作、品質保証、安全性確保等にわたる取扱基準規格を構築すると共に、臨床応用に使用可能なレベルのヒト ES 細胞株の樹立と、将来のヒト ES 細胞バンク構築の可能性の探索を行う。

また、臨床応用に必要となる要件として、動物由来成分を用いない完全合成培地による培養の検討、ヒト由来フィーダー細胞の試験を行っている。これら試験の評価に必要な基準は、国際的に通用するレベルを目指している。この為我々は、2007 年 10 月より開始された ISCBI(International Stem Cell Banking Initiative)による ES 細胞バンクの国際基準策定会議に参画している。

この他、ヒト ES 細胞株のより適切な品質管理体系の確立の為に、その凍結保存過程に着目し、温度制御ステージつき顕微鏡を用いたカニクイザル ES 細胞コロニーの凍結解凍過程の解析、及び DSC(示差走査熱量計)を用いた

熱力学的解析を通じた、細胞、コロニーレベルでの凍結解凍現象の理論化、凍結解凍条件の最適化の検討を試みている。

The Laboratory of Cell Processing was established in the fall of 2005 to develop basic technologies to produce and supply human embryonic stem cells (hES cells) with clinical grade. The cell processing center (CPC), located at underground level of the ES building in the Institute, was built to establish hES cells for clinical use satisfying the standards of Pharmaceutical Good Manufacturing Practices (GMP) and the research necessary to achieve that. The CPC meets the hardware standard of GMP such as management of work, air conditioning, clean level of air, etc. The CPC is composed of several rooms, one for cell processing, one for the Cell-Processing Isolator in which cells can be processed and cultured in a complete closed system, cell-storage, computer controlled observation room, cell storage, supply room etc.

Following the approval of the Government(MEXT) that the CPC can be used as a facility to establish hES cells, we have started research on the establishment and culture of hES in this facility.

The trial to establish clinical-grade hES cells has been done using the conditions developed to establish monkey ES cells, but it should be developed to make the hES cells possible for clinical use and to establish of hES cell banking system.

For the clinical application of hES cells, there are several issues remain to be solved, such as developing an effective complete defined culture medium without animal serum and/or human-tissue derived feeder cells. To verify these factors we should develop a standard that meets the international level. For this we have joined the Working Group for International Standards for ES cells and their banking organized by the ISCB(International Stem Cell Banking Initiative).

One important aspects of our research is to develop an effective protocol for cryopreservation of hES cells that should significantly increase the recoveries of the cells that is quite low at present. In this study we utilize a cryo-microscope equipped with a temperature-controlling stage to observe the cells under freezing and thawing, and a differential scanning calorimeter to measure heat transfer in the cell and suspension medium during the process. First, we have refined our methods with single monkey ES cells and then colonies, and the techniques will be refined and validated on hES cells. We expect this strategy will allow us to find an optimal cryopreservation protocol for hES cells that will contribute to make these cells suitable for clinical use.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

和文総説

高田 圭, 末盛博文, 中辻憲夫, 基礎生物医学の発展・ヒト胚性幹細胞, ティッシュエンジニアリング 2007, 24-29 : 2007, 日本医学館

楠田-古江美保, 臨床用ヒト ES 細胞株樹立における課題, Medical Science Digest, (12) : 2007, ニューサイエンス社

再プログラム化研究領域

Laboratory of Reprogramming Research

客員教授 鳥居 隆三

Visiting Prof. Ryuzo Torii

サル体細胞核移植クローン胚の作製

Cloned blastocysts produced by nuclear transfer from somatic cells in cynomolgus monkey

【研究概要】

ES細胞株樹立のための技術を確立するために、単為発生胚をマウスフィーダー細胞上で培養し、ES細胞株の樹立を行った。カニクイザル体細胞核移植においては、より効率の良い核移植法の検討を行った。さらに、カニクイザルにおけるテラメードES細胞を用いた細胞移植モデルシステムを構築するために、ICSI受精胚の一部の割球からES細胞株の樹立を行った。

1) カニクイザルの単為発生胚からのES細胞樹立

カニクイザル未受精卵子に活性化刺激を与えて、単為発生胚を作製し胚盤胞期胚まで発生させた。そこから内部細胞塊を切り出し、マウスフィーダー細胞上で培養しES細胞株を樹立することに成功した。これらのES細胞は、アルカリフォスファターゼ活性を持ち、サルES細胞に特異的な未分化マーカーを発現していた。

2) カニクイザルにおける効率よい核移植法の検討

従来の核移植法は、未受精卵子の核を取り除いた後にドナーとなる細胞核を注入し発生刺激を与える方法である。今回、我々はこの核移植法に改良を加え、細胞核を注入後、レシピエント卵子の核を取り除き、発生刺激を与えるという従来の方法と順序を入れ替えた方法で核移植を行った。核移植法を改良したことにより、胚盤胞期胚への発生率は安定してきた。さらにこの核移植法によってES様細胞を得るまでに至っており、現在、これらの細胞がES細胞であるか否かの確認中である。

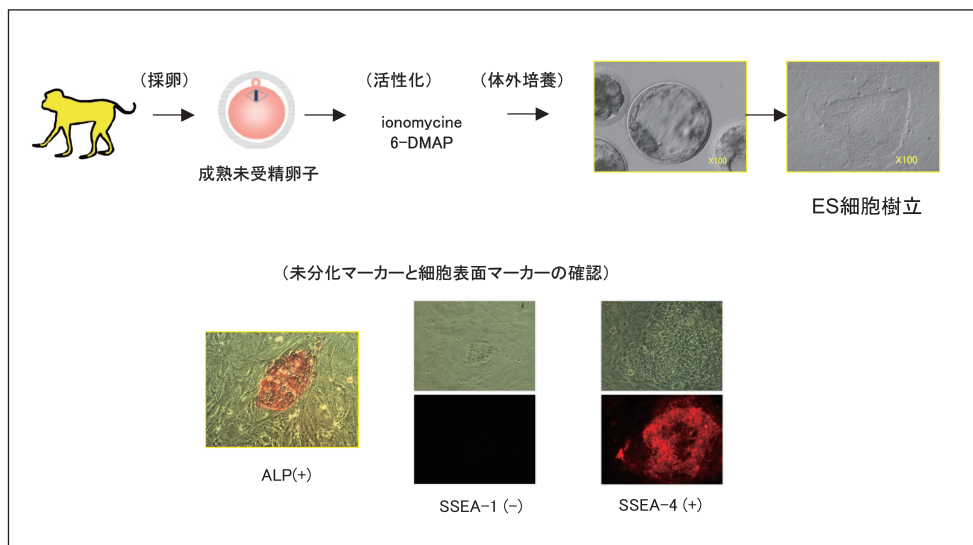
3) カニクイザル顕微授精分割胚由来ES細胞株の樹立

サルにおいて単一割球からのES細胞株の樹立に成功した。この方法は、受精胚を丸ごと使用する従来の樹立方法とは異なり、発生初期の胚の一部を取り出してES細胞を樹立し、残りの胚からは胚移植後に産子を得ることもできる方法である。カニクイザルにおいて、一つの胚からES細胞と産子を得ることができれば、これらは同一遺伝子型であるため、細胞移植医療のモデルシステムを構築することができる可能性がある。さらに、胚の一部だけを使用するため、生命の萌芽ともいわれる受精胚を壊すことなくES細胞を樹立することができる。

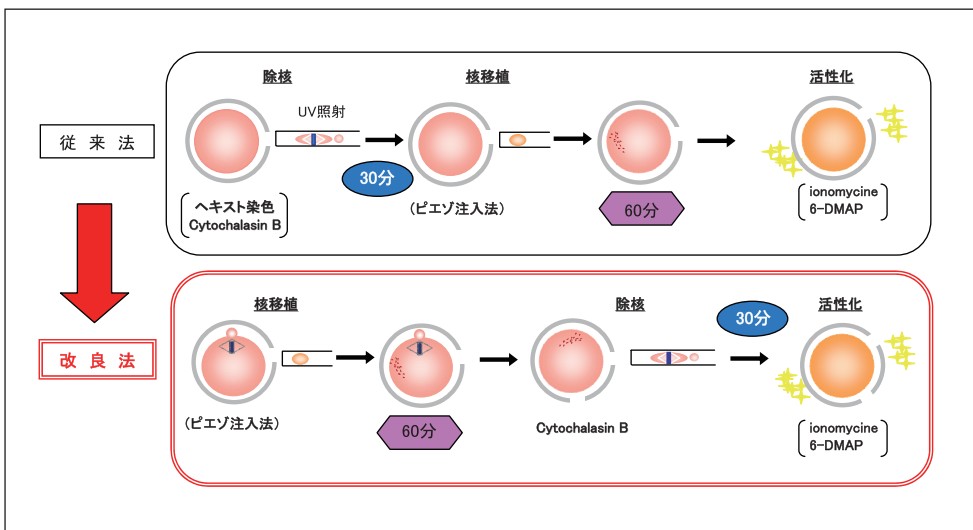
1. Research abstract :

We cultivated parthenogenetic embryos on mouse feeder cells and established ES cell lines in order to confirm techniques for establishing ES cell lines. We also studied more effective nuclear transfer methods in the Cynomolgus monkey. Finally, in order to build a cell transplantation system using tailor-made ES cells in the Cynomolgus monkey,

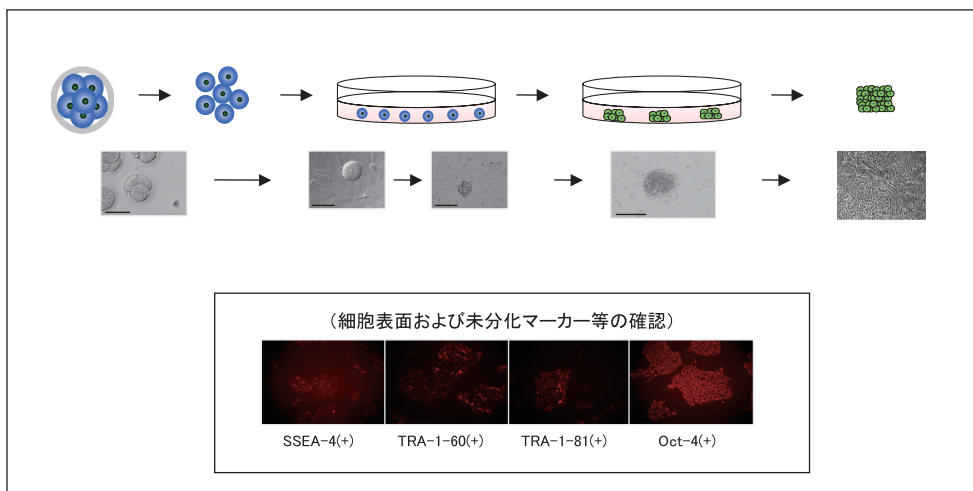
1. カニクイザルの単為発生胚からの ES 細胞樹立



2. カニクイザルにおける効率よい核移植法の検討



3. カニクイザル顕微授精分割胚由来 ES 細胞株の樹立



we established ES cell lines derived from the blastomere that used only part of the ICSI-fertilized embryo.

1) Establishment of ES cell lines from Cynomolgus monkey parthenogenetic embryos

Unfertilized matured cynomolgus monkey oocytes were given activation stimulus, parthenogenetic embryos were produced, and the latter were developed to the blastocyst stage. From there inner cell mass was excised, cultivated on mouse feeder cells, and parthenogenetic ES (pES) cell lines were successfully established. These pES cells showed alkaline phosphatase activity and expressed undifferentiated markers that are specific to monkey ES cells.

2) Study of efficient nuclear transfer methods in the Cynomolgus monkey.

In conventional nuclear transfer, the donor nucleus is injected after an unfertilized matured oocyte has been enucleated and then activation stimulus is applied. Here, we improved this nuclear transfer method by carrying out the nuclear transfer in reverse order : the recipient oocyte was enucleated after injection of the nucleus and then activation stimulus was applied. As a result of these improvements to the nuclear transfer method, the rate of development to the blastocyst stage was stabilized. Finally, we were able to obtain ES-like cells using this method and presently we are in the process of confirming whether these cells are actually ES cells or not.

3) Establishment of ES cell lines from Cynomolgus monkey ICSI split embryo

We successfully established ES cell lines from single blastomeres in the monkey. This method differs from established methods used up until now in which the entire fertilized embryo is utilized. If ES cells and live young can be obtained from a single embryo in the Cynomolgus monkey, then, because they have the same genotype, it may be possible to build a model system for cell transfer medicine. Finally, because only part of the embryo is used, ES cells can be established without destroying the fertilized embryo, the so-called “seed of life”.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Tsuchiya H, Iwatani C, Yamasaki J, Okahara JN, Okahara N, Torii R. Laparoscopic evaluation of ovarian reaction to hormone stimulation in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*), *Reproduction Fertility and Development*, 19(1), 195, 2007.

Okahara-Narita J, Tsuchiya H, Takada T, Torii R. Cloned blastocysts produced by nuclear transfer from somatic cells in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*), *Primates*, 48, 232-240, 2007.

Iwatani C, Okahara-Narita J, Yamasaki J, Tsuchiya H, Torii R (2008) Clonal offspring derived from separated blastomeres in cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*), *Reproduction, Fertility and Development*, 20(1), 100, 2008.

Tsuchiya H, Iwatani C, Okahara-Narita J, Yamasaki J, Torii R (2008) Influence of hoechst staining for nuclear transfer on parthenogenetic embryos in cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*), *Reproduction, Fertility and Development*, 20(1), 111, 2008.

Yamasaki J, Okahara-Narita J, Iwatani C, Tsuchiya H, Torii R (2008) Effect of epidermal growth factor on *in vitro* maturation of cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) oocytes, *Fertility and Development*, 20(1), 208, 2008.

Okahara-Narita J, Yamasaki J, Iwatani C, Tsuchiya H, Torii R (2008) A cynomolgus monkey embryonic stem cell line derived from a single blastomere, *Reproduction, Fertility and Development*, 20(1), 224-225, 2008.

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

Tsuchiya H, Iwatani C, Yamasaki J, Okahara JN, Okahara N, Torii R (2007) Laparoscopic evaluation of ovarian reaction to hormone stimulation in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*), The 33rd Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, Jan 6-10, 2007, Kyoto, Japan.

岡原(成田)純子, 岩谷千鶴, 山崎樹里, 土屋英明, 鳥居隆三 (2007) カニクイザル体細胞核移植胚の早期染色体凝集 (PCC) の形成, 第 54 回実験動物学会総会, 東京 (5/23-25/07)

山崎樹里, 岩谷千鶴, 岡原(成田)純子, 岡原則夫, 土屋英明, 高田達之, 鳥居隆三 (2007) カニクイザル卵子の体外成熟培養条件の検討, 第 54 回実験動物学会総会, 東京 (5/23-25/07)

岩谷千鶴, 岡原純子, 山崎樹里, 土屋英明, 鳥居隆三 (2007) 単為発生胚の発生を指標としたカニクイザル体細胞核移植法の検討, 第 54 回実験動物学会総会, 東京 (5/23-25/07)

土屋英明, 岡原則夫, 山崎樹里, 岩谷千鶴, 岡原(成田)純子, 鳥居隆三 (2007) カニクイザルにおける卵巣周期の同期化, 第 54 回実験動物学会総会, 東京 (5/23-25/07)

岩谷千鶴, 山崎樹里, 岡原純子, 土屋英明, 鳥居隆三 (2007) プログラマブルインフュージョンポンプを用いたカニクイザルの卵胞発育誘起, 第 96 回関西実験動物研究会, 京都 (12/14/07)

Okahara-Narita J, Yamasaki J, Iwatani C, Tsuchiya H, Wakimoto K, Kondo Y, Wakayama T, Torii R (2007) Establishment of cynomolgus monkey embryonic stem cell line from a single blastomere, The 4th Annual Conference of the Asian Reproductive Biotechnology Society, Singapore (11/24-28/2007)

Okahara-Narita J, Yamasaki J, Iwatani C, Tsuchiya H, Torii R (2008) A cynomolgus monkey embryonic stem cell line derived from a single blastomere, 34th Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, Denver, USA (1/5-9/2008)

Iwatani C, Okahara-Narita J, Yamasaki J, Tsuchiya H, Torii R (2008) Clonal offspring derived from separated blastomeres in cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*), 34th Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, Denver, USA (1/5-9/2008)

Yamasaki J, Okahara-Narita J, Iwatani C, Tsuchiya H, Torii R (2008) Effect of epidermal growth factor on in vitro maturation of cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) oocytes, 34th Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, Denver, USA (1/5-9/2008)

Tsuchiya H, Iwatani C, Okahara-Narita J, Yamasaki J, Torii R (2008) Influence of hoechst staining for nuclear transfer on parthenogenetic embryos in cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*), 34th Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, Denver, USA (1/5-9/2008)

附属ナノ再生医工学研究センター Research Center for Nano Medical Engineering

ナノバイオプロセス研究領域 Department of Nano Bioprocess

分野主任 教授 楠見 明弘

Prof. Akihiro Kusumi

【研究概要】

1. 生きている細胞中での1分子観察と操作法の開発

世界的には、in vitro での1分子観察と操作ができる研究室は増えてきている。しかし、私達の研究室の特徴は、1分子観察と操作を生細胞中でおこなうことで、それによって、1分子細胞生物学が可能になった。具体的には生きている細胞中の1分子を、マイクロ秒レベルの時間分解能、ナノメートルレベルの空間精度で追跡し、さらに、それらの分子の活性化(反応)までも1分子毎に見る方法を開発してきた(これらは世界でも我々のみ)。これは、ナノサイエンス/ナノテクノロジーとの融合領域として、1分子ナノバイオロジー、1分子細胞生物学という新しい学問分野の創造につながりつつある。

なお、以下の発見は、1分子法を使って初めて可能になったものであり、単なる生細胞中でのイメージングや多数分子の計測では不可能であったものばかりである。

2. 細胞膜の基本的な構造と、働き方について

細胞膜は2次元の液体(連続体)と考えられてきた。しかし、私達は、(1)細胞膜はコンパートメント化されていること、(2)これは細胞膜に取り込まれた全ての分子に対して働くこと、(3)その機構は、基本的にはアクチン膜骨格によるもので、膜骨格とそこに結合した膜貫通型タンパク質が拡散障壁として働くこと、などを示した。これは、シンガー—ニコルソンモデルに重要な変更を迫るものであり、膜の構造と働き方について、基本的なパラダイムシフトを起こした研究である。

さらに最近、電子線トモグラフィー法を用いて、細胞膜の細胞質側表面に存在するアクチン膜骨格の構造を、3次元再構成法によって、定量的に可視化することに成功した。細胞膜試料として、細胞膜の内側表面を急速凍結ディープエッチ白金レプリカに写し取ったものを用いた。これによって、膜の内側表面の膜骨格の網目の大きさを求めたところ、それが、膜分子の拡散によって得られたコンパートメントの大きさとピタリと一致した(図1参照)。

受容体はシグナルを受けた後、会合して運動を停止するものが多いが(シグナルが来た位置を数十秒程度記憶する)、これは、会合体が膜骨格によるコンパートメントに閉じ込められるか、膜骨格に結合することによることがわかった。さらに、神経細胞の細胞膜には脂質をも通さない拡散障壁が生じるが、これも、アクチン膜骨格とここに結合する膜貫通型タンパク質が密に集合することによって出来ることを示した。

3. シグナル伝達の基本的な仕組みについて

シグナル伝達は、多くの場合、シグナル分子のランダムな拡散運動と衝突によって担われると考えられてきた。

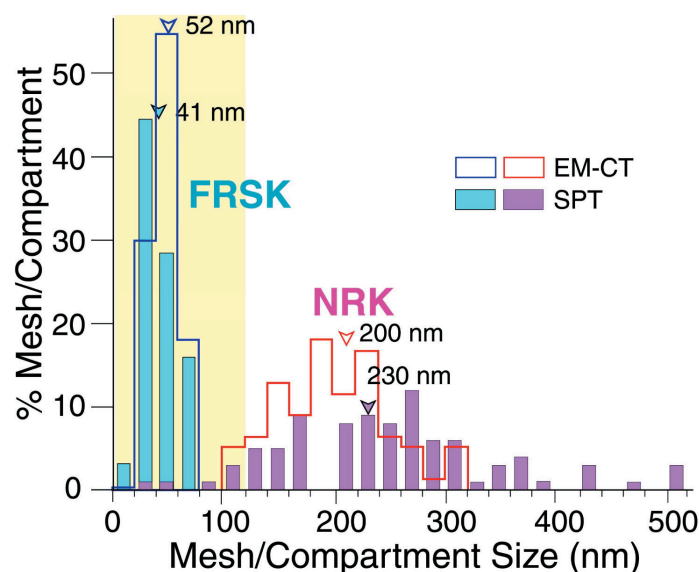


図 1

細胞膜の細胞質側表面に存在するアクチン膜骨格の構造を、3次元再構成法によって、定量的に可視化し、膜の内側表面の膜骨格の網目の大きさを求めた。網目の大きさの分布を、オープンバーで示す。赤がNRK細胞、青が、FRSK細胞。さらに、細胞膜中のリン脂質の拡散運動から求めたコンパートメントの大きさの分布を、クローズドバーで示す。両者は、各々の細胞でよく一致する。このように、網目やコンパートメントの大きさが大きく異なる2種の細胞で、それぞれ一致が見られたことは、膜骨格フェンスとそれに結合した膜貫通型タンパク質のピケットモデルを強く支持する。

近年の、多くの足場タンパク質の発見は、これとは全く逆に、上流と下流の分子は、足場タンパク質が関与する場合にはずっと結合しているものであり、シグナルが来たら、固体の電気回路のように、シグナルを伝えるものであると考えられるようになった。しかし、私達は、ある分子が活性化されると、それに結合する足場タンパク質、下流分子などが急速に集まって信号複合体を形成すること、それらの多くは安定ではなく1秒以下の寿命で分解(不活化)する、ことを見いだした(Ras-Rafの系、ラフトの関与する系)。すなわち、1回毎のシグナル伝達は量子化されており、多数分子の平均として観察される生化学やイメージングによるシグナル変化は、これらの量子的なパルス状のシグナルの和であり、それを担うのがこれらの短寿命シグナル複合体であることが示された。これは、シグナル系のシステムとしての働き方を理解するためには、極めて重要な知見で、きわめて動的なシグナル分子の組織化によるシステム動作の一端が見えてきたと言える。

[Summary of Research]

Paradigm shift of the concept of the plasma membrane structure

The plasma membrane has been considered to be a two dimensional liquid, with their constituent molecules, membrane proteins and lipids, diffusing freely in the plasma membrane, the Singer-Nicolson model widely accepted for these 30 years. However, we found that the plasma membrane is partitioned into many small compartments, and both membrane lipids and proteins undergo short-term confined diffusion within a compartment, and long-term hop diffusion between the compartments. These membrane compartments are delimited by the membrane skeleton and the transmembrane proteins anchored to the membrane skeleton (Fujiwara et al., 2002 ; Murase et al., 2004 ; Kusumi et al., 2005 ; Morone et al., 2006). This entails a paradigm shift for the concept of the plasma membrane, from the continuous 2-dimensional fluid to the compartmentalized, structured system. This could be found because we have developed high time resolution (25 microseconds) single-molecule tracking techniques (Kusumi et al., 2005). If more than

one molecule is observed at the same time, the single hop event would be masked by averaging over all the molecules under observations. Without high-time resolutions, the residency time within a compartment for 1 ms to 1 s could not be detected.

Single-molecule force microscope

An ultra-sensitive, single-molecule optical force scanning probe microscope was developed that uses a single membrane molecule as a probe. This microscope measures the interaction force between the membrane-molecule probe with the membrane skeleton mesh in live cells, and, by mapping the force, images of the membrane skeleton that interact with the membrane molecule were obtained (Ritchie et al., in preparation). A theoretical framework was developed to understand/predict the behavior of single membrane molecules being dragged by the optical trap (Ritchie et al. in preparation).

Detection of transient interactions of two species of molecules in living cells

Two species of molecules were labelled in different colors, and a method to detect their colocalization at the level of single molecules was developed for the first time (Koyama et al., 2005).

Single-molecules FRET imaging of H-Ras activation in living cells

The activation of H-Ras, a GTP-binding protein involved in the signaling pathways for cell proliferation and reorganization of the cytoskeleton, was visualized at the level of individual molecules using a technique called single-molecule fluorescence resonance energy transfer (single-molecule FRET; Murakoshi et al., 2004; Kusumi and Murakoshi, 2005). Activation of H-Ras takes place only temporarily (<2 s), and is accompanied by transient immobilization, which is likely due to the transient formation of an activated-Ras signaling complex with scaffolding proteins.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- W. K. Subczynski, A. Wisniewska, J. S. Hyde, and A. Kusumi : Three-dimensional dynamic structure of the liquid-ordered domain in lipid membranes as examined by pulse-EPR oxygen probing. *Biophys. J.* **92** : 1573-1584 (2007)
- K. G. N. Suzuki, T. K., Fujiwara, F. Sanematsu, R. Iino, M. Edidin, and A. Kusumi : GPI-anchored receptor clusters transiently recruit Lyn and Ga for temporary cluster immobilization and Lyn activation : single-molecule tracking study 1. *J. Cell Biol.* **177** : 717-730 (2007)
- K. G. N. Suzuki, T. K., Fujiwara, M. Edidin, and A. Kusumi : Dynamic recruitment of phospholipase C γ at transiently immobilized GPI-anchored receptor clusters induces IP $_3$ -Ca $^{2+}$ signaling : single-molecule tracking study 2. *J. Cell Biol.* **177** : 731-742 (2007)

2) 書籍・総説

- 岩沢こころ, 楠見明弘 : 細胞膜上のシグナル伝達の 1 分子可視化. 日本臨牀 **65**(2)別刷特集 : 分子イメージング (2007)
- 岩沢こころ, 楠見明弘 : 細胞表面の 1 分子追跡~1 分子観察からタンパク質・脂質が感じている膜構造がわかる~. 再生医療の基礎シリーズ(コロナ社)4「再生医療のためのバイオエンジニアリング」第 9 章 (2007)

- 鈴木健一, 楠見明弘: 細胞構成成分の1分子イメージング, 映像情報メディカル **39**(4): 392-397(2007)
- 鈴木健一: ラフト分子の1分子追跡, 非侵襲・可視化技術ハンドブック第8章「分子細胞から動物までの分子イメージング」第5章(2007)
- 岩沢こころ: 1粒子追跡法と1蛍光分子追跡法, 非侵襲・可視化技術ハンドブックーナノ・バイオ・医療から情報システムまでー第8章第1節 781-790 NTS 出版(2007)
- 藤原敬宏: 高速1粒子追跡法, 非侵襲・可視化技術ハンドブックーナノ・バイオ・医療から情報システムまでー第8章第2節 790-797 NTS 出版(2007)
- 小山ー本田郁子: 1分子追跡法による2分子共局在検出, 非侵襲・可視化技術ハンドブックーナノ・バイオ・医療から情報システムまでー第8章第3節 798-804 NTS(2007)
- 鈴木健一: 1分子観察で初めて見えてくる細胞膜構造, 顕微鏡 **42**(3): 170-173(2007)
- 西村博仁, 楠見明弘: 蛍光顕微鏡ータンパク質の可視化, 生命科学のための機器分析実験ハンドブック第3章顕微解析 pp. 86-91 羊土社(2007)
- 梅村康浩, 楠見明弘: 1分子追跡顕微鏡ー細胞膜分子運動の1分子追跡, 生命科学のための機器分析実験ハンドブック第3章顕微解析 pp. 92-98 羊土社(2007)
- 諸根信弘, 臼倉治郎, 楠見明弘: 電子線フリーズレプリカトモグラフィー法による細胞膜骨格の3次元イメージング, 顕微鏡 **42**(3): 150-154(2007)
- A. Kusumi, Y. Umemura, N. Morone, and T. Fujiwara.: Paradigm shift of the molecular dynamics concept in the cell membrane: high-speed single-molecule tracking revealed the partitioning of the cell membrane. Wiley Inter-science. (in press)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 招待講演

1-1) 国際学会

A) 国外開催

- K. G. N. Suzuki, and A. Kusumi: Mechanism for raft-based signal transduction as studied by single-molecule tracking. Frontiers in Microscopy II: Imaging From Single Molecules to Whole Organisms and Its Application(2007.6. Bar Harbor, U.S.A.)
- N. Morone, T. Fujiwara, K. Murase, R. S. Kasai, H. Ike, S. Yuasa, J. Usukura, and A. Kusumi: Electron tomography reveals the plasma membrane compartmentalization as its three dimensional interplay between membrane and cytoskeletal systems. The American Society for Cell Biology 2007 Summer Meeting & European Cytoskeleton Forum “Dynamic Interplay Between Cytoskeletal and Membrane Systems”(2007.6. Dijon, France)(Upgraded from the poster presentation).
- A. Kusumi: Single-molecule tracking in the living cell membrane: compartments and signaling. Department Seminar at The Department of Physics, The University of Auckland(2007.7. Auckland, New Zealand)
- A. Kusumi: Single-molecule tracking reveals partitioning of the plasma membrane and signal transduction processes. The 3rd Asian and Pacific Rim Symposium on Biophotonics & Biophotonics II(2007.7. Cairns, Australia)
- T. Fujiwara: Compartmentalized movement of lipids in the cell membrane as revealed by single molecule techniques.

NCBS-ICORP-iCeMS Symposium on Spatial and Temporal Mapping of Membrane Molecules. National Centre for Biological Sciences(2007.11. Bangalore, India)

K. G. N. Suzuki : Raft and non-raft molecules undergo very similar diffusion in the time scales between 25 microseconds and 2.5 seconds. NCBS-ICORP-iCeMS Symposium on Spatial and Temporal Mapping of Membrane Molecules. National Centre for Biological Sciences(2007.11. Bangalore, India)

K. G. N. Suzuki : Mechanism for raft-based signal transduction as studied by single-molecule tracking. NCBS-ICORP-iCeMS Symposium on Spatial and Temporal Mapping of Membrane Molecules. National Centre for Biological Sciences(2007.11. Bangalore, India)

A. Kusumi : Transient formation of signalling complexes as detected by single-molecule tracking. NCBS-ICORP-iCeMS Symposium on Spatial and Temporal Mapping of Membrane Molecules. National Centre for Biological Sciences(2007.11. Bangalore, India)

B) 国内開催

C. Nakada, and A. Kusumi : Single-molecule observation and manipulation in neurons. Systems Neurobiology Spring School 2007 “Information processing and developments in neural systems”(2007.3. Osaka, Japan)

A. Kusumi : Paradigm shift of the plasma membrane dynamics and signal transduction mechanisms by single-molecule tracking. Systems Neurobiology Spring School 2007 “Information processing and developments in neural systems”(2007.3. Osaka, Japan)

K. G. N. Suzuki : Single-molecule imaging of raft-based signal transduction in living cells. The 10th International Membrane Research Forum(2007.3. Kyoto, Japan)

R. S. Kasai : Rapid dynamic monomer-dimer equilibrium of GPCR as observed by singlemolecule tracking. The 10th International Membrane Research Forum(2007.3. Kyoto, Japan)

A. Kusumi : Paradigm shift of the plasma membrane dynamics and signal transduction mechanisms by single-molecule tracking. Systems Neurobiology Spring School 2007 “Information processing and developments in neural systems”(2007.7. Wako, Japan)

1－2) 国内学会

楠見明弘：細胞膜でのシグナル変換を 1 分子毎に見る．北海道大学大学院先端生命科学研究院セミナー(2007.1.10. 札幌)

藤原敬宏：1 分子法による生体膜分子の拡散運動の可視化．日本物理学会 2007 春季大会(2007.3.20. 鹿児島)

楠見明弘：1 分子ごとに脂質を追跡する一膜コンパートメントとシグナル誘起ラフト．第 112 回日本解剖学会総会・全国学術集会(2007.3.28. 大阪)

楠見明弘：1 分子で見る細胞膜ラフトのシグナル変換機構．日本薬学会第 127 年会(2007.3.29. 富山)

楠見明弘：1 分子追跡・操作法による細胞膜の機能構造の研究．日本生化学会近畿支部例会(2007.5.19. 京都)

中田千枝子, 吉田広人, 長谷川理恵, 土方博子, 岡部繁男, 楠見明弘：グルタミン酸受容体のダイナミクス：1 分子追跡法による研究．日本顕微鏡学会第 63 回学術講演会(2007.5.21. 新潟)

小山一本田郁子, 楠見明弘：GPI アンカー型受容体の情報変換場：1 分子イメージングによる研究．日本顕微鏡学会第 63 回学術講演会(2007.5.22. 新潟)

藤原敬宏：一分子法で語る細胞膜のダイナミクス，日本生化学会関東支部講演会「手法で語る生体膜—生体膜の謎解きのために—」(2007.7.14, 東京)

楠見明弘：Raft-facilitated signal transduction in the plasma membrane. Neuro 2007 第30回日本神経科学会，第50回日本神経化学会，第17回日本神経回路学会合同大会 シンポジウム 3A「Dynamic Protein-Lipid Interaction: Key Roles in Neuronal Development and in Diseases」(2007.9.12, 横浜)

楠見明弘：1分子で見る細胞膜の機能発現機構，奈良女子大学理学部生物学科セミナー(2007.10.19, 奈良)

楠見明弘：細胞膜システムを見る：1分子追跡と操作による研究，奈良県立医科大学セミナー(2007.11.29, 奈良)

諸根信弘，藤原敬宏，村瀬琴乃，笠井倫志，池博司，湯浅茂樹，臼倉治郎，楠見明弘：Three-dimensional reconstruction of the membrane skeleton just beneath the plasma membrane by electron tomography. BMB2007 第30回日本分子生物学会第80回日本生化学会 ワークショップ 1W22「Novel approaches toward the elucidation of the organization and dynamism of cell cortex」(2007.12.11, 横浜)

楠見明弘，鈴木健一：Single-molecule tracking of the signal transduction by GPI-anchored receptors: protein-protein, raft-based, and actin-membrane-skeleton interactions. BMB2007 第30回日本分子生物学会第80回日本生化学会合同年会シンポジウム 2S2「Interface between membranes and cytoskeletons」(2007.12.12, 横浜)

鈴木健一，楠見明弘：Systems mechanism for raft-based signal transduction as studied by single molecule tracking. BMB2007 第30回日本分子生物学会第80回日本生化学会合同年会ワークショップ 3W7「細胞生理機能を支える機能場の生体膜における動的な生成と消滅：生体膜マイクロドメイン」(2007.12.13, 横浜)

笠井倫志，Eric R. Prossnitz，中田千枝子，Aaron Coutts，小山一本田郁子，藤原敬宏，楠見明弘：Direct determination of monomer-dimer dynamic equilibrium of a GPCR by a single fluorescent-molecule tracking. 第45回日本生物物理学会年会 シンポジウム「Systems biology of intracellular signaling as studied by single-molecule imaging」(2007.12.21, 横浜)

楠見明弘：1分子追跡で見る細胞膜上のシグナル変換機構，京都大学再生医科学研究所平成19年度学術講演会(2007.12.26, 京都)

2) 一般発表

2-1) 国際学会

A) 国外開催

Y. M. Umemura, T. Fujiwara, K. Suzuki, M. Vrljic, S. Y. Nishimura, and A. Kusumi: Both MHC class II and its GPI-anchored form undergo hop diffusion as observed by single-molecule tracking. The Biophysical Society's 51st Annual Meeting(2007.3. Baltimore, U.S.A.)

K. J. Tanaka, T. K. Fujiwara, K. G. N. Suzuki, X.-Y. Shan, and A. Kusumi: Microdomains in the plasma membrane of the smooth-muscle cell?: single-molecule tracking of phospholipids. The Biophysical Society's 51st Annual Meeting(2007.3. Baltimore, U.S.A.)

K. G. N. Suzuki: Microdomains and membrane-skeleton-induced compartments as studied by single-molecule tracking of GPI-anchored proteins and a phospholipid. NCBS-ICORP-iCeMS Symposium on Spatial and Temporal Mapping of Membrane Molecules. National Centre for Biological Sciences(2007.11. Bangalore, India)

C. Nakada, H. Yoshida, R. Hasegawa, T. Umeda, S. Okabe, and A. Kusumi: Single-molecule tracking of the dynamic

remodeling of a glutamate receptor clusters induced by ligand binding. NCBS-ICORP-iCeMS Symposium on Spatial and Temporal Mapping of Membrane Molecules. National Centre for Biological Sciences(2007.11. Bangalore, India)

Y. L. Nemoto, I. Koyama-Honda, F. Sanematsu, K. Ito, Y. Shimada, M. Yahara, Y. Ohno-Iwashita, and A. Kusumi : Single-molecule tracking and detection of transient association of cholesterol in the live-cell plasma membrane. NCBS-ICORP-iCeMS Symposium on Spatial and Temporal Mapping of Membrane Molecules. National Centre for Biological Sciences(2007.11. Bangalore, India)

K. Hirose, S. I. Yoshida, T. K. Fujiwara, K. Morigaki, and A. Kusumi : Regulation mechanism of the early stage of the IgE-Receptor (FcεRI) signaling pathway : single-molecule tracking study. NCBS-ICORP-iCeMS Symposium on Spatial and Temporal Mapping of Membrane Molecules. National Centre for Biological Sciences (2007.11. Bangalore, India)

H. Yoshimura : Signal transduction of Toll-like receptor 4 : Single molecule study. NCBS-ICORP-iCeMS Symposium on Spatial and Temporal Mapping of Membrane Molecules. National Centre for Biological Sciences(2007.11. Bangalore, India)

R. Kasai, E. R. Prossnitz, A. Coutts, E. Kajikawa, I. Koyama-Honda, T. Fujiwara, and A. Kusumi : Kinetics of fluorescent ligand binding to formyl peptide receptor, a GPCR. NCBS-ICORP-iCeMS Symposium on Spatial and Temporal Mapping of Membrane Molecules. National Centre for Biological Sciences(2007.11. Bangalore, India)

B) 国内開催

C. Nakada, H. Yoshida, R. Hasegawa, T. Umeda, S. Okabe, and A. Kusumi : Dynamic remodeling of NMDA receptor clusters induced by ligand binding : single-molecule study. The 10th International Membrane Research Forum (2007.3. Kyoto, Japan)

H. Nishimura : Silicon nanoparticles : Development of novel fluorescent probes for single-molecule tracking in the live cell membrane. The 10th International Membrane Research Forum(2007.3. Kyoto, Japan)

Y. M. Umemura : Both MHC class II and its GPI-anchored form undergo hop diffusion as observed by single-molecule tracking. The 10th International Membrane Research Forum(2007.3. Kyoto, Japan)

I. Koyama-Honda : Transient recruitment of the cytoplasmic lipid-anchored signaling molecules at GPI-anchored receptor clusters : single-molecule detection. The 10th International Membrane Research Forum(2007.3. Kyoto, Japan)

K. Sakamoto : Detection of transient arrest of lateral diffusion of membrane molecules in single-molecule tracking trajectories. The 10th International Membrane Research Forum(2007.3. Kyoto, Japan)

T. Fujiwara : Corralling of phospholipids and transmembrane proteins by “fences” and “pickets” in the cell membrane : single-molecule tracking study. The 10th International Membrane Research Forum(2007.3. Kyoto, Japan)

K. Tanaka : Compartments and partitioning in a smooth muscle cell membrane as observed by single-molecule tracking of phospholipids. The 10th International Membrane Research Forum(2007.3. Kyoto, Japan)

K. Iwasawa : Single fluorescent molecule tracking of MARCKS on the cytoplasmic surface of the cell membrane. The 10th International Membrane Research Forum(2007.3. Kyoto, Japan)

- R. S. Kasai: Direct estimate of the dimmer fraction of a GPCR using a single fluorescent-molecule. The 10th International Membrane Research Forum(2007.3. Kyoto, Japan)
- K. J. Tanaka, T. K. Fujiwara, K. G. N. Suzuki, X. -Y. Shan, and A. Kusumi: Microdomains and compartments in the smooth muscle cell membrane: single-molecule tracking of phospholipids. 45th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan(2007.3. Yokohama, Japan)
- K. G. N. Suzuki, T. K. Fujiwara, M. Edidin, and A. Kusumi: Microdomains and membrane-skeleton-induced compartments as studied by single-molecule tracking of GPI-anchored proteins and a phospholipid. 京都大学再生医科学研究所国際シンポジウム(2007.10. Kyoto, Japan)

2-2) 国内学会

- 小山-本田郁子, 藤原敬宏, 笠井倫志, 梶川絵理子, 八原雅子, 楠見明弘: 細胞膜内層の脂質アンカー型分子と細胞膜外層ラフト分子の細胞膜を介した非対称・短寿命共局在. 第45回日本生物物理学会年会(2007.12. 横浜)
- 坂本晋子, 藤原敬宏, 小山-本田郁子, 楠見明弘: 細胞膜分子の一分子軌跡における軌跡の停留部分検出法の開発. 第45回日本生物物理学会年会(2007.12. 横浜)
- 根本悠宇里, 小山-本田郁子, 実松史幸, 嶋田有紀子, 八原雅子, 岩下淑子, 楠見明弘: 細胞膜中コレステロールの短寿命共局在の1分子追跡と検出. 第45回日本生物物理学会年会(2007.12. 横浜)
- 柴田明裕, 永井理恵, 立松律弥子, 成瀬恵治, 楠見明弘: アクチン線維を制御する低分子量Gタンパク質 Rac1 の接着斑へのリクルート: 1分子追跡による研究. 第45回日本生物物理学会年会(2007.12. 横浜)

シミュレーション医工学研究領域 Department of Medical Simulation Engineering

分野主任 教授 堤 定美

Prof. Sadami Tsutsumi

【研究概要】

本研究室では、生体組織と力学的に調和する生体材料や人工臓器の開発など生体機能の再生を目的とした診断・治療の支援を行うために、コンピュータ科学や材料工学の手法を用いて、以下のような基礎的ならびに応用的研究を行っている。

1. 生体組織の力学的適応変形に関するシミュレーション

生体組織の力学的特性の解明を基本として、特に骨のモデリングならびにリモデリング現象など生体組織の力学的合理性の適応変形過程などについて数値シミュレーションを行っている。その結果、等応力分布あるいは等歪エネルギー密度分布などの制約関数に従って、各種骨組織の形態が形成されていることが示唆され、この制約の下に、

生体組織と力学的に調和する人工関節等のインプラントのデザインの創生を試みている。(新エネルギー・産業技術総合開発機構助成金および NITE との共同研究)(厚生労働省科学研究費補助金)

2. 人工歯根周囲における歯根膜の再生

現在の人工歯根は、天然歯根のように歯根膜を持たず、直接顎骨に固定させるので、咀嚼時の動的荷重が緩衝されず直接顎骨に伝わる。その結果、歯槽骨に過大な応力が発生して骨吸収が起こり、ゆるみが生じる危険性が高い。そこで、チタン製人工歯根をポリマーで被覆し、表面処理により細胞接着性タンパク質であるコラーゲンを固定化し、さらにその上に歯根膜細胞を培養し、歯根膜ならびにセメント質の再生を図っている。(文部科学省科学研究費補助金)

3. MR Elastography(MRE)による in vivo 弾性率データの計測、解析および検証

磁気共鳴弾性率計測法(MRE)は、MRI をベースとする新たな測定技術であり、これによる体内組織・器官の非侵襲性弾性率計測の手法を確立し、医療研究支援用の生体組織データベースを構築する。また触感デバイスを用いた人工現実感(VR)による VR モデルシステムを開発している。(情報学専攻との共同研究)

4. パラレルメカニズム咀嚼ロボット

歯科や外科領域での診断や手術では、人体構造の静的な位置情報だけでなく、動的な運動情報が予後を左右する。運動情報をコンピュータに取り込むためにパラレルメカニズムを採用した多関節アームを開発してきたが、さらに駆動系を組み込んだパラレルロボットを開発し、個々の患者の口腔内模型を咀嚼中に計測した顎運動情報に基づいて運動させるシステムを開発した。

5. 歯冠修復用高強度・高靱性ガラスセラミック材料と加圧成型システムの開発

優れた生体適合性と従来の歯科用ポーセレンよりも 3~4 倍高い曲げ強度と破壊靱性値をもつ Diopside 系ガラスセラミック材料を開発し、900℃ 付近で加熱・加圧成型・結晶化するシステムなど加工性と審美性をも備えた新しい歯冠修復用材料を研究してきており、臨床試験の最中である。

6. 新しい生体材料としてのマグネシウム合金の開発

生体必須のミネラルであり、比強度がもっとも高い金属の一つであるマグネシウムは、体液中でアパタイトの沈着が速やかであり、新生骨との結合と転化に優れた特性を有することを見出しており、生体材料とくに人工骨用材料としての応用を目指している。(京都府中小企業総合センターとの共同研究)

7. 人工関節軟骨・人工椎間板などの医療用ハイドロゲル

関節軟骨が持つ優れた力学的特性を具備した人工関節軟骨材を開発することにより、関節の病変部のみを置換し健全な軟骨下骨梁を残す新しい人工関節軟骨の開発を目指している。当研究室にて新しく開発した高強度・高弾性率ポリビニルアルコールハイドロゲルは人工関節軟骨・椎間板材料として有望である。(医学研究科整形外科学講座との共同研究)

8. 耐摩擦・摩耗特性に優れた人工関節用ポリエチレン

人工関節の摺動部に使用される超高分子量ポリエチレンの摩耗粉により発生する不良肉芽組織が骨吸収を惹起する異物反応が問題となっている。そこで、物理的な改良法により最終成形物に分子配向と結晶面配向を導入することにより、耐摩耗性の改良を試み、良好な結果が得られている。

9. 生体組織と材料の衝撃吸収特性など力学的物性の測定ならびに解析

衝撃解析シミュレーションや生体を模した頸部モデルによる追突実験から、鞭打ち損傷を解明し、安全で快適な自動車シートの開発を試みている。

10. ポリフェノールによる細胞増殖制御と生体組織の長期間保存

緑茶ポリフェノール成分であるエピガロカテキンガレート(EGCG)が細胞・組織の保護作用を持つことを発見し、生体組織の保存に応用する研究を行っている。角膜に関しては、既存の角膜保存液は約1週間の保存期間であったが、EGCGを添加することにより2週間の保存期間でも上皮、内皮ともに形態、機能を維持することができる保存液を開発した(京都府立医科大学眼科教室共同研究)。

末梢神経を約4週間保存し、その後移植することで拒絶無く生着させる事が可能であることを見出した(京都大学医学部整形外科共同研究)。

膵臓は凍結解凍によりダメージを受けインスリン分泌能などが低下するため臨床用には凍結保存法は採用されていない。我々は凍結障害を防止し、形態・機能共に維持したまま保存することが可能であることを示した(京都大学医学部移植外科共同研究)。

EGCGで組織を処理することにより移植後の急性期拒絶を抑える可能性を見出した。マウスリンパ球の表面抗原の解析を行い、EGCGが免疫細胞の抗原認識を一部阻害することが原因であることを突きとめ、リンパ球移植実験で効果を確認した。この技術を用いることにより将来的に免疫抑制剤の投与量を減少させることが期待される。

EGCGで移植用血管を処理することで移植後の内膜肥厚を抑制し狭窄を予防できることを発見した。これにより心臓疾患治療のための冠動脈バイパス手術の成功率を高めることが可能である(京都大学医学部心臓血管外科共同研究)。

11. 骨格筋収縮エネルギーを利用した人工心臓駆動システム(筋肉の力学モデルの構築)

患者自身の筋肉を駆動力に用いる「骨格筋ポンプ」と呼ばれる新しいデバイスの開発を目的としている。広背筋と胸膜の間にバルーンを挟み込み、広背筋に電気刺激を与えて収縮させ、その収縮力を人工心臓の駆動力として有効に利用する。(文部科学省リーディングプロジェクト)

12. 生体形態計測システムと手術シミュレーション(顎変形症治療計画支援システム)

顎変形症手術に際しては、患者と術者とが術式の定量的検討と術後の咬合機能と顔貌の改善予測情報を確認して(informed consent)、望むことが極めて重要である。3次元画像を多用した、治療計画支援のためのシステムを開発している。(医学研究科口腔外科学講座および整形外科科学講座との共同研究)

13. 人体に優しい義歯床

現在、臨床で広く使用されている義歯床として、加熱重合タイプのポリメチルメタクリレート(PMMA)と、射出成型タイプのポリサルホン(PS)やポリカーボネート(PC)が知られている。加熱重合タイプのPMMAは、重合に伴う収縮率が高く、耐衝撃性等の力学的特性に劣る上、特に残留モノマーが多いため、使用時に残留モノマーの溶出によるアレルギー反応が惹起されることが指摘されており、生体に対する安全性の問題が残っている。

そのため、これに替わる材料としてPSやPCが射出成型用義歯床として使用されるようになって来た。ところがPSは耐衝撃性に劣り、またPCについても、残留モノマーであるビスフェノールが、近年環境ホルモンとしての毒性が大きく取り上げられている。さらにPMMA補修部材としての接着性が悪い為、人体にとって安全で、しかも耐衝撃性等の力学的特性に優れ、残留モノマーが少ない義歯床が切望されてきた。

本研究では、残留モノマーが極めて少なく、刺激や毒性のない人体に優しいのみならず、耐衝撃性や高曲強度で、耐久性に優れた射出成型タイプの義歯床を開発し、臨床の場に提供する準備を行っている。(近畿経済産業局速攻型地域新生コンソーシアム研究開発事業)

14. 生分解性を有する二液反応型の医療用接着剤

生体接着剤の中で多くの分野で大量に使用されているのはフィブリン糊である。しかし、血液凝固作用を利用し

た血液製剤であるため、C型肝炎の感染症問題が非常に大きな社会問題となっている。現状は、各病院ともフィブリン糊の使用に際して、患者よりC型肝炎のリスクがあることを理解している旨の承諾書を取った上で使用されており、フィブリン糊に代わる安全性の高い医療用シーラントの出現が切望されている。また、フィブリン糊の接着力は低く創傷面から剥がれやすいこと、および生体内での分解が早すぎることも問題視されている。このため、本研究ではこれらの問題点の改善を目標とした。

安全性が高くかつ生体内分解速度を任意にコントロールできる接着剤を提供するのが本研究の特色である。これまでに我々は、生分解性合成高分子や、天然高分子に反応性の種々の官能基を導入し、外科用接着剤としての可能性を検討してきた。その結果、多糖類は穏和な条件下で酸化することによりアルデヒド基が導入され、水溶液中の状態では非常に安定であるが、グリシンやリジン等の低分子アミン種と反応させると、シッフ塩基結合が形成されると同時に多糖類が分解され低分子化してゆくことを偶然発見した。この反応を利用して分子設計してゆくことにより、既報告にはみられない自己分解性という特徴を有する極めて新規な医療用接着剤の開発が可能であるとの着想に至った。現在までの研究で、分解速度が任意にコントロール可能であること、フィブリン糊より柔軟性が高いこと、毒性が極めて低いこと、フィブリン糊より接着力が高いこと、食品添加物を原料とするため安価で提供できることなどが分かり、新規医療用接着剤として実用化でき臨床応用の可能性の目処が立った。

1. Simulation of Biomechanical Adaptation Process of the Living Tissues.

Numerical simulations are carried out especially on the modeling and remodeling phenomena of the bones as the biomechanical adaptation. With constraint functions such as stress distribution or strain energy density distribution, it is indicated that the form of the bone has been modeled, and the design of artificial dental roots which dynamically harmonizes with the living tissue under this constraint has been tried. (Supported by New Energy and Industrial Technology Development Organization)

2. Regeneration of the periodontal Membrane around Dental Implant Roots.

The present artificial dental root is fixed directly in the alveolar bone without having periodontal ligament like natural tooth root, the stresses are directly transmitted without any damping effect. The excessive stresses in the alveolar bone may arise and cause the bone resorption by which the loosening of the implants occurs. Therefore, we have been attempting that the dental implant made of titanium is covered with a polymer, and the collagen which is the cell adhesive protein is fixed by some surface treatments, and in addition, the periodontal ligament cell is cultivated on the surface for regeneration of the periodontal membrane. (Supported by Ministry of Culture, Science and Education)

3. MR Elastography Measurement, Analysis and Verification.

Magnetic resonance elastic modulus measurement method (MRE) of the elastic modulus is a new measuring technique based on the MRI, and it establishes the technique of the noninvasive elastic modulus measurement of the living tissue and organ in vivo. Database construction for the medical research support, and virtual reality (VR) system using the haptic device are investigated. (Joint Research with Information Division, Kyoto University)

4. Kinematic Analysis of a mastication Robot employing the 6-degree-of-freedom parallel mechanism

Dynamic behaviors of the human body affect the diagnosis or the prognosis of operations in dental and surgery fields. In our laboratory, mastication robot is developed in order to represent the human mandibular dynamics ; i.e. not only kinematics but also pressure acting between jaws. The robot employs the 6-degree-of-freedom parallel mechanism in order to decrease the positional information errors.

5. Development of glass ceramics with high strength and toughness and pressure forming systems for restorative crown materials

Diopside glass ceramics is known as biocompatibility. Moreover, we have been developing the ceramics to have 3 and 4-fold higher the strength and toughness than the used dental porcelains. The crystallization system with heating and pressure molding is developed and now is running a clinical trial.

6. Development of magnesium alloys as biomaterials.

Magnesium offers several advantages such as low density, high specific strength to weight ratio, good castability, non-toxic. Moreover, magnesium is an essential element in human body. The present study is carried out to evaluate magnesium in medical and dental applications and to examine its corrosion behavior. (A joint research with Kyoto Fuchu small enterprise and synthesis centers)

7. New Artificial Articular Cartilage and Intervertebral Disk.

Development of the artificial cartilage and intervertebral disk is necessary in order to recover support and mobility simultaneously in joints and spine which received the damage. We examined the possibility of the application of polyvinyl alcohol hydrogel which can control the mechanical strength by the change of water content and is excellent in the biocompatibility. It replaces only lesion part and leaves the sound subchondral bone. The high strength and high elastic modulus of the polyvinyl alcohol hydrogel newly developed in this department is promising as artificial articular cartilage and intervertebral disk material.

8. Polyethylene for Artificial Joints with High Wear Resistance.

The wear particles of polyethylene are produced by the friction between the metal and UHMWPE when artificial joint used for the long term. It is known that the osteolysis occurs by foreign body granulation tissue which the wear particle induces. The development of new UHMWPE for artificial joint which controlled super structure by the crystallization under molecular orientation is being tried in order to improve abrasion resistance of UHMWPE.

9. Measurement and Analysis of Impact Energy Absorption of the Living Tissues and Biomaterials.

By computer simulations and experiments with anatomical cervical model in rear-end collision, the generation mechanism of the whiplash injuries is clarified, and the development of the safe automobile sheet is being tried.

10. Proliferation Control of Mammalian Cells and Tissue Preservation for Long Term.

EGCG, a green tea polyphenol, not only improves preservation of non-frozen tissues such as cornea, nerves, and pancreatic but solves some potential problems pertaining to transplantation and cardiovascular medicine. EGCG with its immuno-suppressive and anti-proliferative effects prevents graft rejections in various tissues and neo-intimal hyperplasia in vein grafts, respectively. Therefore, the use of EGCG for preserving the living tissues and controlling their cellular responses will provide us a starting point to advance the future of regenerative medicine.

11. Mechanical Analysis of the isometric Contraction of the Skeletal Muscles for an Artificial Heart Support. (Construction of Dynamic Model of the Muscle)

Our development of a new device called “skeletal muscle pump” which uses the Latissimus Dorsi muscle for artificial heart drive system using the skeletal muscle contraction has been investigated. A balloon is inserted between the muscle and pleura, and an electric stimulation is given in the muscle to contract, and the shrinkage force is effectively utilized as driving force of the artificial heart. (Reading Project of The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Reading Project)

12. Morphometry System and Operation Simulation (Therapeutic Planning Support System for Jaw Deformities)

In the jaw deformation disease operation, patients and surgeons would like to confirm quantitative evaluation of operative method and improvement of postoperative occlusal function and feature (informed consent). The system for the therapeutic planning support which uses the three-dimensional images abundantly has been developed. (Joint Research with Department of the Oral Surgery and Orthopaedic Surgery Kyoto University)

13. The gentle denture base in human body

Today, we are researching and developing novel thermoelastic denture base composed of polymethylmethacrylate (PMMA) as a main component for injection molding. Denture base is generally employed polycarbonate (PC) as thermoelastic resin. However, PC is eluted in one's mouth, bis-phenol A of an environmental pollution, and furthermore, poor adhered to PMMA resin of repair adhesive. Heat- polymerized type PMMA mainly employed as denture base, is eluted in one's mouth a lot of monomer and oligomer, which come from residue product of polymerization, and is anxious to cause an allergy. We are researching and developing novel thermoelastic denture base which overcomes disadvantages of traditional denture resin.

14. Self-degradable bioadhesive

To improve the drawback points of conventional and commercially available medical adhesives, such as cyanoacrylate, aldehyde-based, and fibrin glue, new type bioadhesive has been prepared using medical and food additive sources as starting materials. Aldehyde groups could be easily introduced in dextran in the presence of sodium periodate in aqueous media and the extent of introduction also controlled. In vitro degradation speed of hydrogel prepared by mixing of aldehyded dextran with ϵ -poly (L-lysine) at 37°C significantly varied by acetic anhydride concentration added to ϵ -poly (L-lysine) from < 5h to > 5 weeks. Bonding strength of the glue was 4 times higher than that of commercial fibrin glue and almost no cytotoxicity was observed, suggesting the development of novel self-degradable bioadhesive.



Fig. 1. This glue prepared with syringe-like container with two cylinders (a,b) ; one cylinder (a) is filled with aldehyded dextran solution, and the other (b) with ϵ -poly (L-lysine) solution. The container has special mixing tip which can mix two solutions each other by the equal volume as passing through it (B). The mixed adhesive is gradually gelating (B-D).

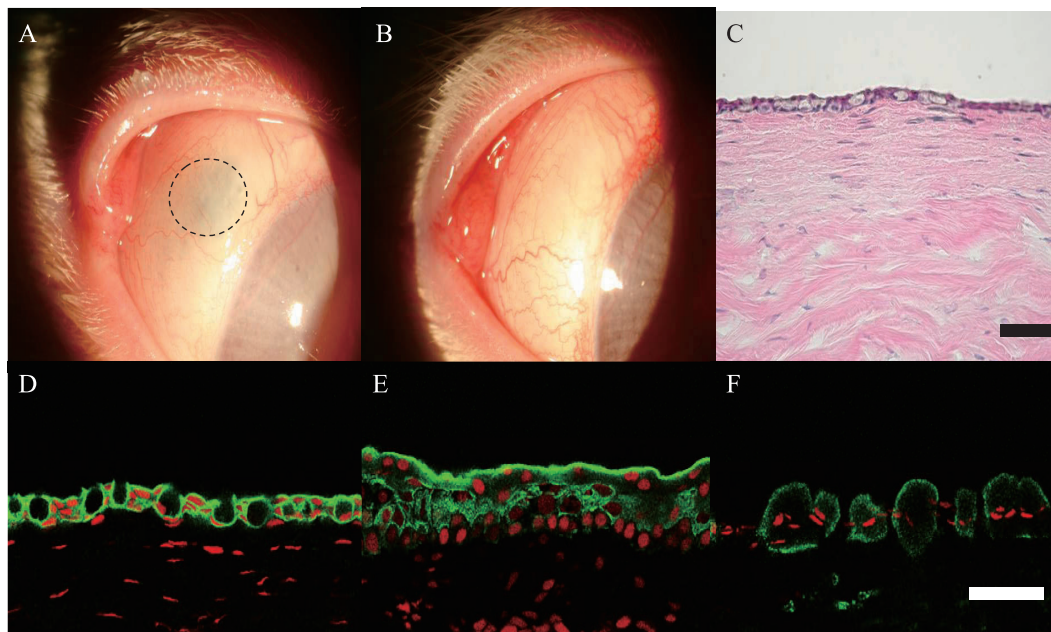


Fig. 2. Representative finding of slit lamp examination immediately (A) and 4weeks (B) after the subconjunctival injection of the bioadhesive. Injected area could be identified by blue area translucent through conjunctiva. H-E staining (C) and immunohistochemical staining of CKs 4 (D) and 13 (E), and MUC5AC (F) in injected area revealed that they were similar to normal tissue. Nuclei were stained with propidium iodide (red). Scale bars : 50 μ m.

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

- Ino T, Nakai R, Azuma T, Yamamoto T, Tsutsumi S, Fukuyama H .Somatotopy of corticospinal tract in the internal capsule shown byfunctional MRI and diffusion tensor images. *Neuroreport*. 18(7) : 665-8(2007).
- Matsumura, K., Kim, J-Y., Tsutsumi,S., Hyon,S-H. : Hibernation, reversible cell growth inhibition by epigallocatechin-3-O-gallate. *Journal of Biotechnology*. 127(4), 758-764 (2007)
- Matsumura, K., Hyon S-H., Nakajima, N., Tsutsumi, S. : Effects on gingival cells of hydroxyapatite immobilized on poly (ethylene-co-vinyl alcohol) . *J Biomed Mater Res A* 82A 288-295 (2007)
- Nakajima, N., Sugai, H., Tsutsumi, S., Hyon, S-H. : Self-degradable bioadhesive. *Key Engineering Materials* . Vols.342-343, pp.713-716(2007)
- 距離のある神経欠損に対する人工神経の開発. 市原理司, 中村達雄, 稲田有史, 遠藤克昭, 東 高志, 中井隆介, 堤 定美, 黒澤 尚. *Peripheral Nerve* 18(2) : 237-238(2007)
- 澤井大輔, 玉田真規, 横山隆文, 金元哲夫, 玄 丞休, 文 成日: 分子量ポリ L-乳酸/ポリ D-乳酸ブレンド試料の延伸によるステレオコンプレックス晶の生成と延伸物の力学物性: SEN'I GAKKAISHI(報文) Vol.63, No.1, 1-7(2007)
- 澤井大輔, 樋口直之, 金元哲夫, 玄 丞休, 優れた高温物性を有するポリ L-乳酸/単層カーボンナノチューブコンポジットの作製. SEN'I GAKKAISHI(報文). Vol.63, No.3, 53-59(2007)
- Sawai, D., Tsugane, Y., Tamada, M., Kanamoto,T., Moon, S-I., Hyon, S-H. : Crystal density and heat of fusion for a Stereo-Complex of Poly(L-Lactic acid) and Poly(D-Lactic acid). *Journal of Polymer Science : Part B : Polymer*

Physics. Vol.45, 2632-2639(2007)

Kim, J-Y., Kina, T., Iwanaga, Y., Noguchi, H., Matsumura, K., Hyon, S-H. : Tea polyphenol inhibits allostimulation in mixed lymphocyte culture. Cell Transplantation. Vol.16(1), 75-83 (2007)

Araki, M., Tao, H., Sato, T., Nakajima, N., Sugai, H., Hyon, S-H., Nagayasu, T., Nakamura, T. : Creation of a uniform pleural defect model for the study of lung sealants. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. 134(1), 145-151 (2007)

Araki, M., Tao, H., Nakajima, N., Sugai, H., Sato, T., Hyon, S-H., Nagayasu, T., Nakamura, T. : Development of new biodegradable hydrogel glue for preventing alveolar air leakage. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 134 : 1241-8 (2007)

So, K., Takemoto, M., Fujibayashi, S., Neo, M., Kyomoto, M., Hayami, T., Hyon, S-H., Makamura, T. : Antidegenerative effects of partial disc replacement in an animal surgery model. SPINE. Vol. 32(15), 1586-1591 (2007)

Han, D-W., Cho, H-H., Jung, D-Y., Lee, J-J., Matsumura, K., Park, J -C., Hyon, S-H. : Rat vascular smooth muscle cell behaviors onto epigallocatechin gallate-blended L-lactide/ε-caprolactone copolymers. Key Engineering Materials. Vols. 342-343, pp. 189-192 (2007)

Cho, H-H., Matsumura, K., Nakajima, N., Han, D-W., Tsutsumi, S., Hyon, S-H. : Degradation control of collagen by epigallocatechin-3-o-gallate. Key Engineering Materials. Vols. 342-343, pp. 781-784 (2007)

Rah, D-K, Han, D-W., Baek, H-S., Hyon, S-H., Park, B-Y. : Protection of rabbit kidney from ischemia/reperfusion injury by green tea polyphenol pretreatment. Archives of Pharmacol Reserch. Vol.30, No.11, 1447-1454 (2007)

姜 有峯, 猪熊宏幹, 福岡 敦, 丘 進卿, 堤 定美, 菅原 桂, 原実生子, 鄭 徳泳, 土屋利江, 再生軟骨の力学的成熟度評価のための非接触式体積弾性率測定法の開発, 日本臨床バイオメカニクス学会誌, Vol.28, pp. 81-86 (2007)

2) 著 書

玄 丞休：人工膝関節置換術 [TKA] のすべて。「人工膝関節の素材ポリエチレン」(勝呂 徹, 井上 一編集 メディカルビュー社, 東京) 283-293 (2007)

玄 丞休：再生医療技術の最前線・「スキャホールド」(岡野光夫, 大和雅之 監修, シーエムシー出版, 東京) 1-9 (2007)

3) 総 説

玄 丞休：生分解性高分子材料ポリ乳酸の医療および工業的応用—生分解性高分子材料の放射線架橋—. 工業材料. Vol.55, No.3 : 70-75 (2007)

松村和明, 玄 丞休：緑茶ポリフェノールの医療応用. Bio Industry. JAN. 64-71 (2007)

玄 丞休, 中島直喜, 須賀井一：医療用接着剤 “LYDEX”. 高分子. Vol. 56, 764 (2007)

姜 有峯, 鄭 徳泳, 堤 定美, 人工股関節の耐久性に関するシミュレーション—周囲骨の力学的適応変形とステムの疲労強度の予測—, シミュレーション, Vol.26 No.3, pp. 30-34 (2007)

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

- 玄 丞休, 須賀井一, 金宗 潤, 松村和明, 堤 定美, 外園知恵, 小泉範子, 堀 邦子, 木下 茂: 緑茶ポリフェノールを用いた新規角膜保存液の開発. 第6回日本再生医療学会(2007.3.13, 横浜)
- Hyon, S-H., Nakajima, N., Sugai, H.: Biodegradable adhesive composed of polysaccharide and polyamino acid. Society for Biomaterials 2007 Annual Meeting (2007.4.18-21, Chicago)
- 矢儀一智 前田芳信 東 高志 堤 定美: 開口量を変化させた際の咽頭断面積と舌口蓋接触位置の変化—MRIを用いた検討—. 第116回日本補綴歯科学会(2007.5.18-20, 神戸)
- 市原理司, 中村達雄, 遠藤克昭, 稲田有史, 糸井真一, 東 高志, 堤 定美, 黒澤 尚: 距離のある神経欠損に対する神経チューブの開発. 第80回日本整形外科学術総会(2007.6.11-12, 神戸)
- 市原理司, 中村達雄, 遠藤克昭, 稲田有史, 糸井真一, 東 高志, 堤 定美, 黒澤 尚: 距離のある神経欠損に対する神経チューブの開発. 第18回日本末梢神経学会(2007.8.24-25, 弘前)
- Ichihara, S, Nakamura, T, Inada, Y, Itoi, S, Nakada, A, Endo, K, Azuma, T, Nakai, R, Tsutsumi, S, Kurosawa, H.: Development of new nerve guide tube for repair of longer nerve defects. ESAO 2007 (2007.9.5-8, 2, Austria)
- Ichihara, S, Inada, Y, Nakada, A, Endo, K, Azuma, T, Nakai, R, Tsutsumi, S, Kurosawa, H, Nakamura, T: Development of new nerve guide tube for repair of longer nerve defects. ISRMT 2007 (2007.9.19-20, Kyoto)
- 東 高志, 中井隆介, 伊藤 仁, 鷹羽浄顕, 浦山慎一, 吉田忠剛, 瀧澤 修, 福山秀直, 堤 定美: Cine MRIによる再生治療におけるウサギ慢性心筋虚血モデルの高分解能計測. 第35回日本磁気共鳴医学会大会(2007.9.27-9, 神戸)
- 中井隆介, 東 高志, 市原理司, 中村達雄, 瀧澤 修, 堤 定美, 末梢神経再生評価法としての筋肉3次元解析. 第35回日本磁気共鳴医学会大会(2007.9.27-9, 神戸)
- 市原理司, 中村達雄, 稲田有史, 遠藤克昭, 東 高志, 中井隆介, 堤 定美, 黒澤 尚: 長い神経欠損の修復に対応可能な新しい神経チューブの開発. 第34回日本マイクロサージャリー学会(2007.10.18-20, 福島)
- 市原理司, 中村達雄, 遠藤克昭, 稲田有史, 糸井真一, 東 高志, 堤 定美, 黒澤 尚: 距離のある神経欠損に対する神経チューブの開発. 第22回日本整形外科基礎学術総会(2007.10.25-26, 浜松)
- 市原理司, 中村達雄, 遠藤克昭, 稲田有史, 糸井真一, 東 高志, 堤 定美, 黒澤 尚: 距離のある神経欠損に対する神経チューブの開発. 第10回日本組織工学会(2007.11.8-9, 東京)
- 松村和明, 高山博史, 裴 庭胤, 栗原 満, 堤 定美, 玄 丞休: 緑茶ポリフェノールによる血小板保存効果. 第34回日本臓器保存生物医学会(2007.11.16-17, 札幌)
- 松村和明, 開發邦宏, 森 修一, 玄 丞休: 緑茶ポリフェノール EGCG 新規誘導体の抗ガン活性とそのDDS化. 第29回日本バイオマテリアル学会(2007.11.26-27, 大阪)
- 松村和明, 速水 尚, 玄 丞休, 堤 定美: ハイドロキシアパタイト薄膜コートによるポリビニルアルコールハイドロゲルの骨芽. 第29回日本バイオマテリアル学会(2007.11.26-27, 大阪)
- 市原理司, 中村達雄, 遠藤克昭, 稲田有史, 糸井真一, 東 高志, 堤 定美, 黒澤 尚: 距離のある神経欠損に対する神経チューブの開発. 第29回日本バイオマテリアル学会(2007.11.26-27, 大阪)
- Han, D-W., Tsutsumi, S., Hyon, S-H.: Preventive effects of epigallocatechin-3-gallate against serial passage-induced senescence in primary mammalian cells. 第5回日本再生歯科医学会(2007.9.22-23, 東京)

- Han, D-W., Bae, J-Y., Matsumura, K., Wakitani, S., Hyon, S-H. : Non-frozen preservation of articular cartilages by epigallocatechin gallate via regulation of cell cycle and NF-kB expression. 第34回日本臓器保存生物医学会 (2007.11.16-17. 北海道)
- Han, D-W., Hyon, S-H., Park, J-C. : Cytoprotection by laminin pretreatment via blocking internalization of epigallocatechin-3-gallate into cytosol of L-929 cells. The 3rd International Conference on Polyphenols and Health. (2007.11.26-28. Kyoto)
- Han, D-W., Cho, H-H., Matsumura, K., Hyon, S-H. : Application of epigallocatechin gallate-releasing poly(L-lactide-co-ε-caprolactone) to stent-coating materials : attenuated behaviors and responses of vascular smooth muscle cells and platelets. The 1st Asian Biomaterials Congress (2007.12.6-8. Tsukuba)
- Han, D-W., Cho, H-H., Hyon, S-H., Jeong, S-J., Kim, B-J., Jung, D-Y., Lee, J-J., Tsutsumi, S. : Development of epigallocatechin gallate-eluting polymeric stent and its physicochemical, biomechanical and biological characterizations. The 2nd International Conference on Mechanics of Biomaterials & Tissues (2007.12.9-13, Hawaii)
- 曹 漢姫, 松村 和明, 堤 定美, 玄 丞侑 : 緑茶ポリフェノールを用いたコラーゲンの架橋とその組織工学への応用. 第6回日本再生医療学会総会 (2007.3.13-14. 横浜)
- Cho, H-H., Han, D-W., Matsumura, K., Tsutsumi, S., Hyon, S-H. : Cellular responses of smooth muscle cells to epigallocatechin gallate-releasing bioresorbable polymer and its cellular mechanism. Society for Biomaterials 2007 Annual Meeting (2007.4.18-21. Chicago)
- Cho, H-H., Han, D-W., Matsumura, K., Tsutsumi, S., Hyon, S-H. : Application of epigallocatechin gallate-releasing poly(L-lactide-co-ε-caprolactone) to drug eluting stents : attenuated behaviors of vascular smooth muscle cells and platelets. International symposium on regenerative medical therapy (2007.9.19-20. Kyoto)
- Cho, H-H., Matsumura, K., Tsutsumi, S., Hyon, S-H. : Degradation control of cross-linked collagen by green tea polyphenol, (-)-epigallocatechin-3-O-gallate. International Dental Materials Congress 2007 (2007.11.21-24. Bangkok)
- 曹 漢姫, 松村和明, 堤 定美, 玄 丞侑 : エピガロカテキンガレート (EGCG) 架橋コラーゲンスポンジの物理化学的性質及び生体適合性評価. 第29回日本バイオマテリアル学会大会 (2007.11.26-27. 大阪)
- 裴 庭胤, 韓 東旭, 松村 和明, 脇谷滋之, 縄田昌司, 玄 丞侑 : 緑茶ポリフェノール (EGCG) を用いたヒト軟骨組織の低温長期保存. 第6回日本再生医療学会総会 (2007.3.13-14. 横浜)
- 川崎智洋, 門田真二, 田中和人, 片山傳生, 玄 丞侑 : ステレオコンプレックス型ポリ乳酸繊維の機械的特性評価. 日本機械学会関西支部 第82期定時総会講演会 (2007.3.16-17. 大阪)
- Bae, J-Y., Han, D-W., Matsumura, K., Hyon, S-H. : Application of EGCG-Base storage solution to cold preservation of osteochondral tissues. Society for Biomaterials 2007 Annual Meeting (2007.4.17-20. Chicago)
- Bae, J-Y., Han, D-W., Kim, J-Y., Tsutsumi, S., Hyon, S-H. : Cytoprotective Effect Epigallocatechin-3-gallate in Neonatal Human Tarsal Fibroblast. IFMS International Symposium 2007 (2007.9.19-20. Kyoto)
- 田中秀和, 北條正樹, 玄 丞侑, 田中基嗣, 安達泰治, 近田英一 : 一軸延伸した HAp/高分子量 PLLA 複合材料の変形・破壊特性評価. 第32回複合材料シンポジウム (2007.10.18-19. 長崎)
- 裴 庭胤, 松村和明, 韓 東旭, 脇谷滋之, 川口杏夢, 縄田昌司, 玄 丞侑 : 緑茶ポリフェノール (EGCG) 添加保存液による移植用軟骨組織の保存. 第34回日本臓器保存生物医学会 (2007.11.16-17. 北海道)

- Bae, J-Y., Han, D-W., Kim, J-Y., Hyon, S-H., Tsutsumi, S. : Reversible regulation of cell cycle and gene expression of neonatal human tarsal fibroblasts by epigallocatechin-3-O-gallate. ICPH 2007 3rd International Conference on Polyphenols and Health(2007.11.25-28. 京都)
- Bae, J-Y., Han, D-W., Kang, Y-B., Hyon, S-H., Wakitani, S., Tsutsumi, S. : Biological and biomechanical evaluations of osteochondral allografts preserved in cold storage solution containing epigallocatechin gallate. Second International Conference on Mechanics of Biomaterials & Tissues(2007.12.9-13. Hawaii)
- 金 学嬉, 川添 剛, 鈴木 茂彦, 松村 和明, 堤 定美, 玄 丞休: ポリフェノールを用いた皮膚組織の凍結保存. 第34回日本臓器保存生物医学会(2007.11.16-17. 北海道, 札幌)
- Kim, H-H., Kawazoe, T., Suzuki, S., Matsumura, K., Tsutsumi, S., Hyon, S-H. : Enhanced wound healing by polyphenol-incorporated collagen sponge in diabetic db/db mice. 21st European Conference on Biomaterials(2007.9.9-13. Brighton)
- 茂木健人, 寺村 聡, 姜 有峯, 玄 丞休, 藤原邦彦, 富田直秀: dl- α -Tocopherol(Vitamin E)添加が人工膝関節用超高分子量ポリエチレンに結晶化に及ぼす影響. 第34回日本臨床バイオメカニクス学会(2007.12.7-8. 東京)
- 朴 奉柱, 朴 鐘喆, 田口 英昭, 松澤哲宏, 玄 丞休, 松村和明, 亀井克彦, 高鳥浩介: Epigallocatechin-3-O-gallate(EGCg)の皮膚糸状菌に対する抗真菌活性に関する研究. 日本防菌防黴学会第34回年次大会, (2007 8.30-31. 大阪)
- Uehara, H., Kakiage, M., Takeno, H., yamanobe, T., Murakami, S., Sawai D., Hyon, S-H. : Structural change during uniaxial drawing and annealing from amorphous poly(lactic acid). 9th International Symposium on Polymers for Advanced Technologies(2007.10.22-25. Shanghai)
- Miyazaki, H., Yonekura, A., Hyon, S-H., Wada, S. : Effects of gamma-ray irradiation on the mechanical properties and degradation rate of poly L-lactic acid mesh. 3rd Asian Pacific Conference on Biomechanics(2007.11.5-7. Tokyo)
- 澤井大輔, 金元哲夫, 玄 丞休, 文 成日: PLLA/PDLA ブレンドの延伸により作製した高配向ステオコンプレックス結晶試料の物性と構造. 平成 19 年度繊維学会年次大会(2007.6.20-22. 東京)
- 澤井大輔, 玉田真規, 金元哲夫, 玄 丞休: ポリ L-乳酸/ポリ D-乳酸ブレンドの延伸による構造と物性変化. 第56回高分子討論会(2007.9.19-21. 名古屋)
- 澤井大輔, 金元哲夫, 玄 丞休: ナノコンポジットおよび立体相補的会合化を利用した高耐熱性ポリ乳酸の開発. 第16回ポリマー材料フォーラム(2007.11.29-30. 東京)
- 柏 薫里, 壽 典子, 松村和明, 玄 丞休, 吉矢晋一, 大串 始: ヒト間葉系幹細胞の長期保存における緑茶カテキン(EGCG)の効果. 第6回日本再生医療学会(2007.3.13. 横浜)
- 柏 薫里, 壽 典子, 松村和明, 玄 丞休, 吉矢晋一, 大串 始: 再生医療に用いる細胞の EGCG による機能強化. 第29回日本バイオマテリアル学会大会(2007.11.26-27. 大阪)
- 山元輝明, 藤林俊介, 中島直喜, 須賀井一, 玄 丞休, 中村孝志: 生分解性を有する新規の生体接着剤 LYDEX. 第29回日本バイオマテリアル学会大会(2007.11.26-27. 大阪)
- 荒木政人, 田尾裕之, 中島直喜, 須賀井一, 佐藤寿彦, 玄 丞休, 永安 武, 中村達雄: 胸膜肺実質欠損モデルを用いた新しい生体内分解性合成接着剤による肺瘻閉鎖効果の検証. 第29回日本バイオマテリアル学会大会(2007.11.26-27. 大阪)
- 手嶋晋太郎, 姜 有峯, 堤 定美: 生体軟組織の低侵襲力学特性測定法の開発に関する研究. 第34回日本臨床バイオメカニクス学会(2007.12.7-8. 東京)

猪熊宏幹, 姜 有峯, 菅原 桂, 原実生子, 鄭 徳泳, 土屋利江, 堤 定美: 再生軟骨の非接触式体積弾性測定装置の開発に関する研究, 第 34 回日本臨床バイオメカニクス学会(2007.12.7-8, 東京)

2) 講 演

玄 丞休: 再生医療における生分解吸収性ポリマーの役割, 「第 6 回日本再生医療学会」(依頼講演)(2007.3.13, 横浜)

玄 丞休: 緑茶ポリフェノールの再生医療への応用, 「第 6 回日本再生医療学会」(依頼講演)(2007.3.13, 横浜)

玄 丞休: 歯科, 口腔外科における有機高分子系バイオマテリアル, 「平成 19 年度日本歯科理工学会支部夏季セミナー」(依頼講演)(2007.8.8, 大阪)

堤 定美: シミュレーション医工学と形成外科学, 「第 16 回日本形成外科学会基礎学術集会」(特別講演)(2007.10.11, 神戸)

堤 定美: シミュレーションと標準化とアジア連携, 「日本歯科保存学会 2007 年 127 回秋季学術大会」(特別講演)(2007.11.8, 岡山)

玄 丞休: 再生医療を指向した機能性バイオマテリアルの設計と応用, 「第 29 回日本バイオマテリアル学会」(学会賞受賞講演)(2007.11.26, 大阪)

玄 丞休: The biomaterials for the regenerative medicine, 「The 3rd International Symposium of Kyung Hee University School of Dentistry」(招待講演)(2007.12.17, Seoul)

玄 丞休: The application of the green tea polyphenol as a biomaterials for the regenerative medicine, 「Mini Symposium in Korea Institute of Science and Technology」(招待講演)(2007.12.18, Seoul)

ナノバイオメカニズム研究領域 Department of Nano-Biomechanism

助教 都賀谷紀宏

Assist. Prof. Toshihiro Togaya

【研究概要】

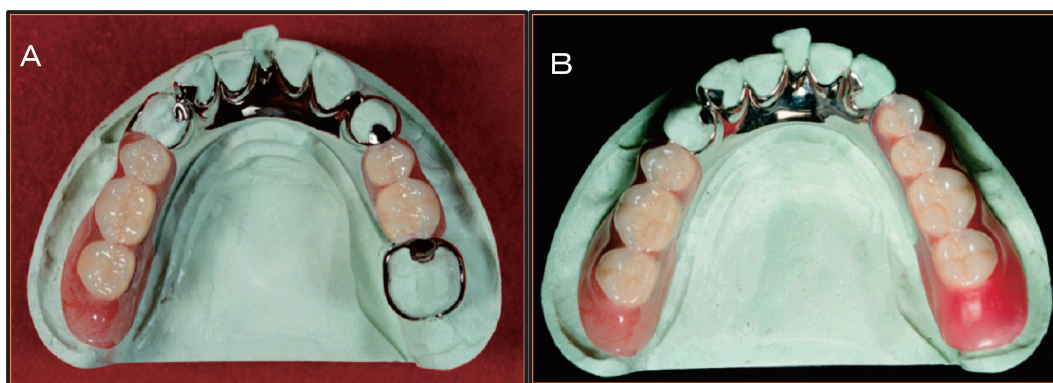
歯の欠損は、歯科口腔機能の障害や低下のみならず、審美性の低下ももたらし、生活の質の低下にも結びつく。近年、高齢化に伴い、従来から用いられている義歯の需要も伸びてきている。また、欠損補綴分野でのインプラントの普及も著しいものがある。このような状況のなか、歯科補綴物の品質に対する要求はより高まってきており、特にインプラントのような人工歯根を用いた場合、その上部構造(義歯)には、高い精度が要求される。

本研究分野では、歯科補綴物に用いられる材料の成形加工法について、レーザー加工法を中心として検討し、生物学的適合性、力学的適合性および形態的適合性に優れた高精度歯科補綴物の製作システムについて研究している。また、これらの歯科補綴物製作を担当する歯科技工士の高齢化や若手技工士の離職率の高さが社会問題になりつつあり、熟練技工士の技術・技能の伝承をいかに行うか、次世代の技工士をいかに養成するか、という社会学的問題

についても検討している。

Restoration and maintenance of oral function (ingestion, mastication, swallowing and phonation) are essential for ADL (activity of daily living) and QOL (quality of life) especially in the elderly. The goal of our study is to establish the fabrication systems of precision dental prostheses, which have excellent biological, mechanical- and morphological-compatibility.

On the other side, there is a big social problem in the manufacturing industry of the dental prostheses in Japan. The society tends to be composed by elderly dental technicians, and many young people in this field quit work because they do not feel financially stable. We are also investigating such a sociological problem.



レーザー加工によってリフォームされた義歯。鉤歯が抜歯されたため、この部分だけ義歯を作製し直し、旧義歯と接合した。これまでは一から作り直さなければならなかったものがリフォームで済み、患者の満足感も高い。

A：リフォーム前 B：リフォーム後

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 総説

都賀谷紀宏：レーザー溶接入門「第1章：なぜレーザー溶接か？」，*歯科技工* **35**(1)：126-133(2007)

都賀谷紀宏：レーザー溶接入門「第1章：なぜレーザー溶接か？ 2. 歯科技工のパラダイムシフトとレーザー溶接」，*歯科技工*，**35**(2)：242-391(2007)

都賀谷紀宏：レーザー溶接入門「第2章：レーザー溶接とは」，*歯科技工* **35**(3)：392-402(2007)

都賀谷紀宏：レーザー溶接入門「第3章：レーザー溶接の基礎 1. レーザー発振原理とレーザー溶接機の構造」，*歯科技工* **35**(4)：516-527(2007)

都賀谷紀宏：レーザー溶接入門「第3章：レーザー溶接の基礎 2. レーザー溶接に関するパラメータ」，*歯科技工* **35**(5)：660-669(2007)

都賀谷紀宏：レーザー溶接入門「第3章：レーザー溶接の基礎 3. レーザー溶接の仕組み」，*歯科技工* **35**(6)：740-750(2007)

都賀谷紀宏：レーザー溶接入門「第4章：レーザー溶接の実際 1. レーザー溶接の手順」，*歯科技工* **35**(7)：902-911(2007)

都賀谷紀宏：レーザー溶接入門「第4章：レーザー溶接の実際 2. レーザー溶接の臨床例-1) 歯科補綴物の修理への応用」，*歯科技工* **35**(8)：1066-1075(2007)

- 都賀谷紀宏：レーザー溶接入門「第4章：レーザー溶接の実際 2. レーザー溶接の臨床例－2) 歯科補綴物のリフォームへの応用」, 歯科技工 **35**(9) : 1176-1187(2007)
- 都賀谷紀宏：レーザー溶接入門「第4章：レーザー溶接の実際 2 レーザー溶接の臨床例－3) 異種金属間のレーザー溶接」, 歯科技工 **35**(10) : 1306-1318(2007)
- 都賀谷紀宏：レーザー溶接入門「第4章：レーザー溶接の実際 2 レーザー溶接の臨床例－4) 溶接欠陥対策」, 歯科技工 **35**(11) : 1450-1461(2007)
- 都賀谷紀宏：レーザー溶接入門「第5章：歯科技工パラダイムシフトにおけるレーザー溶接の役割」, 歯科技工 **35**(12) : 1562-1572(2007)
-

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

Hanatani S., Togaya T., Ohkubo C., Ishikawa C., Miura E., Moriyasu K., Hayashi D., Muraishi E., Mizuno Y., Hosoi T. :
International Dental Materials Congress 2007 (2007.11.21-24, Bangkok)

2) 講演・シンポジウム

都賀谷紀宏：21世紀型歯科技工の在り方－歯科技工の未来を拓くために－, 香川県歯科医学大会(特別講演)
(2007.2.4, 高松)

Togaya T. : Application of laser welding to titanium dental prostheses. The 6th International Symposium on Titanium
in Dentistry (Invited Lecture) (2007.6.5-6, Kyoto)

レーザー技工が明日の歯科技工を拓く－21世紀型歯科技工へのパラダイムシフト－, 北海道歯科技術専門学校実
技研修会 21世紀型歯科技工へのパラダイムシフト, 京都府歯科技工士会生涯研修会 (2007.12.9, 京都)

再生医工学研究領域 Department of Medical Engineering

Visiting Prof. Morimoto, Richard Isamu

【Research Overview】

Molecular chaperones play a key role in refolding of denatured proteins. I have studied the role of molecular chaperones in preventing protein aggregation and protecting cells from the toxicity of misfolded proteins.

During my stay in the institute, I studied aggregation and toxicity of misfolded proteins that cause neurodegenerative disorders, in collaboration with members in the laboratory of Prof. Nagata (Department of Molecular and Cellular Biology) in the institute. I greatly contributed to the progress of this collaborative research project by advising direction of the project and indicating detailed methods to achieve it. This collaborative project has

been successful particularly for understanding the role played by misfolded proteins in causing neurodegenerative disorders. In addition, I provided a series of seminars for young researchers in this institute and in the Kyoto University entitled “Protein Misfolding in Aging and Neurodegenerative Disease”, “Chaperone Networks in Biology and Disease” and “The Heat Shock Response”.

Visiting Prof. Wonhwa Cho

【Research Overview】

Regulation of cellular processes, such as cell signaling, is mediated by the myriads of molecular interactions. Many cellular proteins form dynamic protein networks and complexes on or near cell membranes. Cellular protein-protein interactions are tightly regulated in a spatially and temporally specific manner and accumulating evidence shows that membrane lipids play important roles in the of spatiotemporal regulation of protein activities and protein networking (Figure 1). In general, lipid molecules serve as site-specific signals that recruit a large number of cellular proteins to various membrane locations. Because it has been well established that misregulation of lipid-mediated protein localization and activation leads to various human diseases, including cancer, diabetes, autoimmune diseases, and inflammatory disorders, it is important to determine the mechanisms of cellular lipid-protein interactions and lipid-mediated protein-protein interactions. We take a multidisciplinary approach, encompassing physico-chemical, computational, and biological methods, to studying the mechanisms of cellular regulation. Specifically, we develop new tools, including nanosensors and real-time assays, that allow direct and quantitative measurements of complex lipid-protein and protein-protein interactions as well as protein activation in living cells, and design and evaluate new therapeutics and strategies to treat diverse human diseases caused by dysfunction of these processes. More recently, we have applied the single molecule techniques to our studies in collaboration with Prof. Akihiro Kusumi of Kyoto University to understand how individual lipid and protein molecules behave in the cell under physiological conditions.

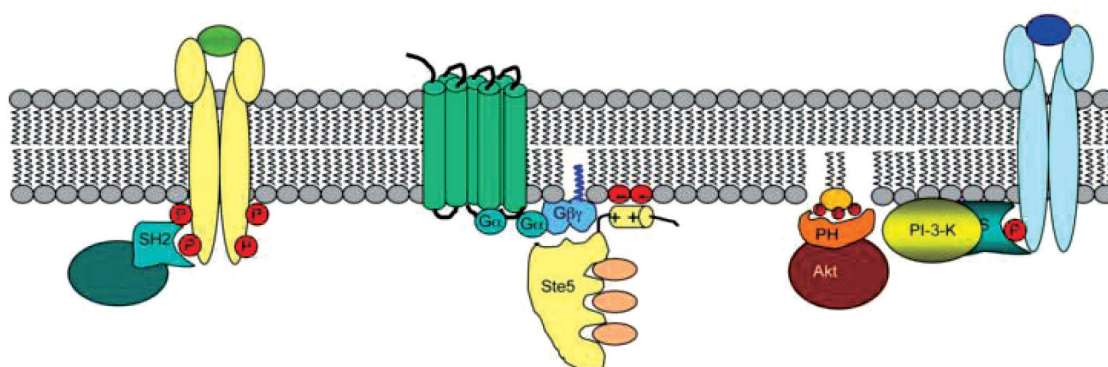


Figure 1. Different models of membrane targeting of signaling proteins and signaling complexes. (A) Membrane recruitment driven primarily by protein-protein interactions. These proteins interact with a receptor or a membrane-associated protein through modular protein-interaction domains, such as the SH2 domain. (B) Membrane recruitment requiring the cooperativity of weak protein-protein and lipid-protein interactions. These proteins, such as Ste5, weakly bind anionic lipids, such as phosphatidylserine or P (4,5) P₂, through either surface cationic residues or a modular lipid-binding domain. (C) Membrane targeting driven mainly by lipid-protein interactions. These proteins (such as Akt) contain one or more modular domains, such as the PH domain, that binds a signaling lipid, such as PtdIns (3,4,5) P₃, with high affinity.

(1) Proteomics of Lipid Binding Proteins

The Cho and Lu laboratories have recently developed and optimized a bioinformatics-based algorithm for predicting lipid-binding proteins, high-throughput *in vitro* and cellular methods for determining lipid binding and subcellular locations of proteins

Lipid binding domains are growing members of structural modules that are specialized in stereospecific lipid recognition. Various cellular proteins that are involved in lipid-mediated processes, such as cell signaling and vesicle trafficking, and implicated in human diseases contain a single copy or multiple copies of lipid binding domains which play important roles in membrane translocation and activation of these proteins. We are identifying and characterizing a wide range of lipid binding domains with novel lipid specificities and unique membrane binding modes and determining how they direct the cellular localization and function of the cellular proteins they reside in. the lipid binding properties of all major modular domains that mediate cellular protein-protein interactions and networking

(2) Development of Nanosensors for Cellular Lipid Quantification

Various lipid molecules regulate a wide range of cellular processes by serving as site-specific signals that recruit their effector proteins from the cytosol or interacting with membrane proteins. One of unsolved questions in cell regulation is how a single signal, such as a signaling lipid, can specifically and differentially control multiple target proteins. Since the cellular location and concentration of signaling lipids, which are tightly regulated by a series of proteins, appear to be a critical factor for this type of complex cellular regulation, we are developing various lipid sensors and analytical methods for real-time quantitative determination of different lipid concentrations in living cells in a spatially specific manner. These methods should allow quantification of multiple bioactive lipid molecules and should provide new insight into how spatiotemporal dynamics of lipid molecules regulate complex downstream cellular processes. We are currently preparing sensors for diacylglycerol, phosphoinositides and sphingolipids, and developing analytical and computational methods for data acquisition and analysis.

(3) Mechanism of membrane deformation by lipid binding domains

Mammalian cells constantly exchange materials with the surrounding through endocytosis and exocytosis, and these vesicle trafficking require a large array of proteins that interact with membranes and membrane-associated proteins. Many proteins involved in vesicle trafficking contain lipid binding domains, including ENTH and BAR domains, which not only bind but also deform cell membranes (Figure 2). We are studying the mechanisms by which various ENTH and BAR domains induce membrane deformation, including bilayer tubulation and vesiculation, by means of various real-time fluorescence measurements. These studies should aid in understanding the mechanisms of cellular vesicle trafficking and might also lay the foundation of designing new classes of lipid-based nanomaterials.

(4) Mechanistic studies of cellular signaling proteins in living cells

There are many pharmacologically important signaling proteins whose regulation depends critically on membrane interactions. They include phospholipases, lipid kinases, lipid phosphatases, and other lipid-dependent enzymes. Since their cellular activities are typically regulated by complex lipid-protein and protein-protein interactions, full understanding of their regulatory mechanisms can only be achieved by studying them in the cellular context. We are

therefore developing real-time cellular activity assays for these signaling proteins, which should allow us not only to investigate their cellular regulatory mechanisms but also to screen a library of small molecules in living cells.

寄付研究部門 Endowed Chairs

組織分化制御学研究部門 Department of Morphoregulation

特任准教授 平井 洋平

Assoc. Prof. Yohei Hirai

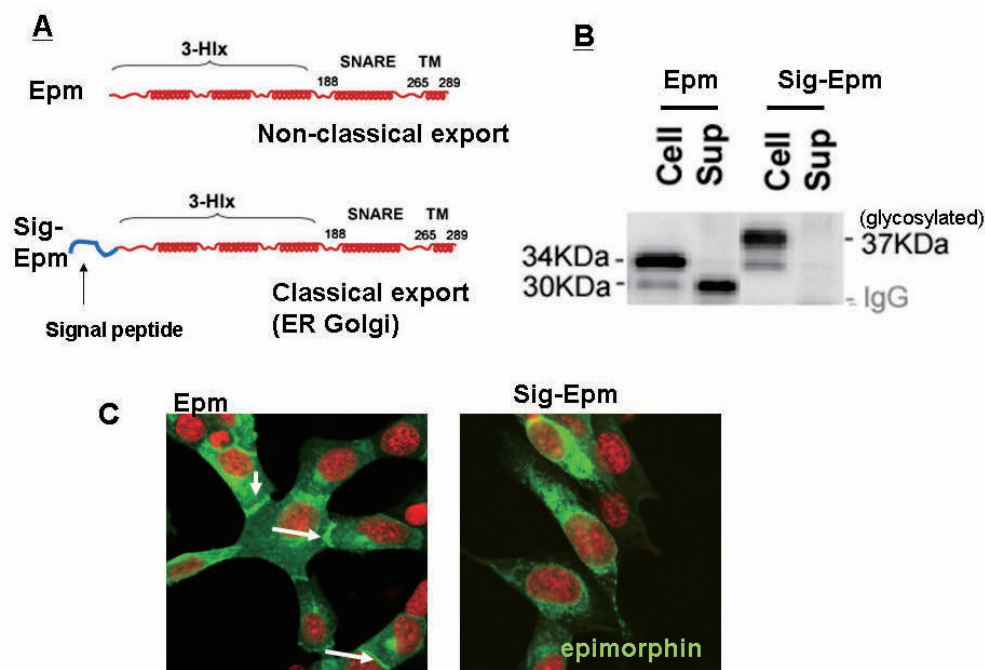
【研究概要】

上皮組織の構築プログラムは個体の発生・器官の再生過程において活発に進行するが出来上がった組織が複雑な生命現象を効率よくこなせるように、その形態変化・機能分化は時間的、空間的に厳密にコントロールされている。当研究室では、必要に応じて細胞外に分泌され隣接する上皮の局所的な形態変化を促す間質細胞内蛋白質エピモルフィンに着目し、この分子の精密な上皮形態調節機構についての研究を行っている。昨年度までに、通常 tSNARE として細胞膜内側で待機しているエピモルフィンの細胞外へ分泌される分子メカニズムと、隣接する上皮細胞に対する作用機構を分子レベルで明らかにしてきた。本年度は、得られた知見をさらに深化させるために、エピモルフィンの細胞内外での機能の相関や他のファミリーメンバー (synatxin1,3,4,5,6) についての比較検討を行うと共に、正常細胞を用いてエピモルフィンが及ぼす効果をより具体的かつ詳細に解析した。その結果、1) エピモルフィンの細胞内機能ドメイン (SNARE ドメイン) はエピモルフィンに分泌方向性を付与するらしい事、2) 種々の細胞の膜上でエピモルフィンと共発現する synatxin3,4 もエピモルフィンと同様に一部が必要に応じて細胞外に分泌される事、3) エピモルフィンの適度な濃度勾配が、皮膚モデルでの正常な表皮分化プログラムの進行に重要であること等が明らかになった。これらの結果は、エピモルフィンのファミリーメンバーが協調的に細胞外シグナル分子としても機能し、形態のみならず機能分化の巧妙な調節に深く関わる可能性を示唆する。また、本年度は、活性化した血小板でエピモルフィンが細胞外に提示される現象が tSNARE 分子の細胞内機能を追及している研究者により確認され、エピモルフィンの細胞外機能は定まった組織構造を形成しない血球系細胞にまで拡張された。今後は、得られた知見をさらに系統的に整理、統合することでエピモルフィンファミリーの細胞外機能の全容を解明し、最終的には組織分化制御における新しい概念の確立を目指したい。(文責：平井)

第二のテーマとして、皮膚上皮細胞の密着結合の形成過程の解析を行っている。これまでに、1) 培養皮膚細胞のひとつである HaCaT 細胞は JNK 阻害剤 SP600125 存在下で数時間培養されると、密着結合を新規に形成し、2) この際に claudin-4 がリン酸化されることを明らかにした。

そこで次に、claudin-4 をリン酸化するカイネースの探索をおこなった。まず、claudin-4 のカルボキシル末端側の細胞質ドメインに、aPKC の基質に保存されている配列を発見し、in vitro の kinase assay により aPKC が claudin-4 の 195 番目のセリンをリン酸化することを明らかにした。HaCaT 細胞において、このセリン残基は前出の密着結合の形成過程の際にリン酸化されることが明らかになった。さらに、リン酸化された claudin-4 はリン酸化されていない claudin-4 に比べてより密着結合に濃縮する傾向が観察された(図2 矢じり)。

一方で、特異性の高い阻害剤を用いた実験により、aPKC の活性が上記の HaCaT 細胞の密着結合の形成に必須

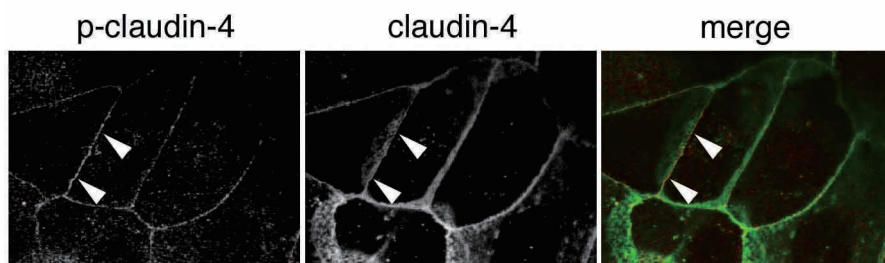


(図 1)

A：生体内の、ならびにシグナルペプチドを人工的に付加したエピモルフィンの構造。

B：繊維芽細胞に A の遺伝子を導入し、エピモルフィンの細胞での発現と培地中への分泌を IB で解析したもの。C：細胞表面に発現しているエピモルフィンの局在を調べたもの。本来エピモルフィンはシグナルペプチドを持たないが一部が必要に応じて分泌される。N 末端にシグナルペプチドを付加するとエピモルフィンは通常の分泌経路に乗って細胞外に運ばれるがこの際、糖鎖修飾がなされ分泌が行われなくなる(B)と共に、限局した細胞外発現のパターンが失われる(C)。

リン酸化 claudin-4 の局在



(図 2)

であることも明らかにした。以上の結果を踏まえ、HaCaT 細胞では aPKC による claudin-4 の 195 番目のセリンのリン酸化によって、密着結合の形成が制御されているのではないかと考えている。今後は、今回同定した密着結合形成の制御機構が他の細胞にも存在するか否かを解明したいと考えている。(文責：青野)

During the developmental and organ regenerative processes, epithelial tissues actively construct complex architectures, where their differentiation programs are spatio-temporally regulated by the surrounding stroma, so that they can effectively exert highly specialized functions in the established organs. We have focused on a morphogenic protein epimorphin, which usually exists at the cytoplasmic surface of the stromal plasma membrane and functions as a t-SNARE molecule, while is temporally secreted extracellularly and elicits local morphogenetic responses in the adja-

cent epithelia. By the last year, we determined molecular elements for its extracellular secretion and the signaling pathway in the target cells. This year, we tried to elucidate how its intracellular and extracellular roles are functionally related and whether other t-SNARE molecules (syntaxin 1, 3, 4, 5, 6) share such intriguing molecular nature. In addition, we investigated how epimorphin signaling impacts on the cyto-differentiation of normal keratinocytes (HaCaT). We found that 1) the domain for epimorphin's intracellular functions (SNARE domain) could determine the direction of epimorphin's vectorial secretion, 2) other membranous t-SNARE molecules (syntaxin 3, 4,) are extracellularly secreted by the similar mechanism as that for epimorphin, and 3) the appropriate concentration gradient of epimorphin in the epidermis is critical for the epidermal keratinization program. These results indicate that epimorphin and its related molecules cooperatively play regulatory roles not only on the morphological but also on the functional differentiation in the target tissues. Recently, an important finding was reported by researchers who have focused solely on cytoplasmic functions of t-SNARE molecules, that is, the extracellular projection of epimorphin is clearly detectable in the activated platelet cells, expanding its extracellular function to hematopoietic cell types. We will further investigate the molecular mechanisms of these intriguing "double-life" proteins to establish a novel concept on the tissue morphoregulation.

(by Hirai Y.)

Another research project currently working on is the analysis of regulatory mechanisms of tight junction (TJ) formation in keratinocyte. We have found that the localization of ZO-1, one of the components of TJ, changes in HaCaT, human epidermal keratinocyte cell line, when this cell line is cultured with JNK inhibitor. In addition, claudin-4, another components of TJ, was newly phosphorylated during this process.

In this period, we tried to find a kinase which phosphorylates claudin-4. During this process, we found that claudin-4 contains a sequence which could be phosphorylated by aPKC. Kinase assay demonstrated that the 195th serine of mouse claudin-4 was phosphorylated by aPKC in vitro. The 194th serine of human claudin-4 corresponding to the 195th serine of mouse claudin-4 was phosphorylated in HaCaT cells cultured with JNK inhibitor, and the phosphorylated claudin-4 co-localized with ZO-1 at TJ. We also found that aPKC activity was required for both the claudin-4 phosphorylation and TJ formation in HaCaT. These findings suggest that aPKC regulates the TJ formation through the phosphorylation of claudin-4.

Now we are examining whether the regulatory mechanism of TJ formation found in HaCaT cells is utilized in other cells. (by Aono S.)

【業績目録】

◆ 誌上発表 ◆

1) 原著論文

Okugawa Y., Hirai Y. : Overexpression of extracellular epimorphin leads to impaired epidermal differentiation in HaCaT keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* In press.

Miura K., Yoshino R., Hirai Y., Goto T., Ohshima S., Mikami K., Yoneyama K., Watanabe D., Sato M., Senoo H., Kodama Y., Osawa Y., Brenner D.A., Watanabe S. : Epimorphin regulates spheroid formation by inducing proteases in rodent hepatocytes through NF- κ B *J Hepatology.* **47** : 834-843 (2007)

Hirai Y., Bissell M. J., Radisky D. : Extracellular localization of epimorphin/syntaxin-2. *Blood.* **110** : 3082 (2007)

Hirai Y., Nelson C.M., Yamazaki K., Takebe K., Przybylo J., Madden B., Radisky D. : Non-classical export of epimorphin and its adhesion to α v-integrin in regulation of epithelial morphogenesis. *J Cell Sci.* **120** : 2032-2043 (2007)

2) 著 書

平井洋平：器官形成を制御するエピモルフィン「再生医療の基礎シリーズ2 再生医療のための細胞生物学」（関口清俊 編著，コロナ社，東京）137-157(2007)

3) 和文総説

山本祥也 平井洋平：毛包上皮幹細胞システムと毛髪の再生 再生医療のいまー基礎研究から臨床への展開に向けてー 治療別冊，**89** : 394-399(2007)

4) 特 許

奥川洋司，平井洋平，大西一禎，栗山健一，辻野義雄 皮膚モデル構築物 特願 2007-287663

奥川洋司，平井洋平，大西一禎，栗山健一，辻野義雄 三次元疾患皮膚再構築物 特願 2007-287658

◆ 学会等の発表 ◆

1) 学会・研究会発表

Aono S. : Phosphorylation of claudin-4 by aPKC is required for tight junction formation in a human keratinocyte cell line. 横浜市立大学 21 世紀 COE プログラム 国際シンポジウム Cell Polarity 2007(2007.12.9-10. 逗子)

Yamazaki K., Madden B., Radisky D., Hirai Y. : Non-classical export of a morphogen epimorphin. 京都大学再生医科学研究所国際シンポジウム (2007.9.19. 京都)

Okugawa Y., Hirai Y. : Effect of extracellular epimorphin on cyto-differentiation of keratinocyte cell line. 京都大学再生医科学研究所国際シンポジウム(2007.9.19. 京都)

山崎恭子, Madden B., Radisky D., 平井洋平：形態形成因子エピモルフィンの細胞外分泌機構 第 40 回 日本発生生物学会 第 59 回日本細胞生物学会 合同大会(2007.5.30. 福岡)

青野真也, 平井洋平：クローディン 4 のリン酸化はケラチノサイトのタイトジャンクション形成に関与する 第 40 回 日本発生生物学会 第 59 回日本細胞生物学会 合同大会(2007.5.28-30. 福岡)

山本祥也, 平井洋平：BMP4 とラミン C による AHF／トリコヒアリン蛋白質の発現調節機構第 40 回 日本発生生物学会 第 59 回日本細胞生物学会 合同大会(2007.5.29. 福岡)

奥川洋司, 大西一禎, 栗山健一, 辻野義雄, 平井洋平：ケラチノサイトの細胞分化に及ぼす細胞外エピモルフィンの影響 第 40 回 日本発生生物学会 第 59 回日本細胞生物学会 合同大会(2007.5.28. 福岡)

2) 講 演

平井洋平 形態形成誘導因子の新しい機能発現機構と組織の形態調節 第 6 回再生医療学会総会シンポジウム「多細胞社会が特定構造を効率よく構築できるメカニズム」(2007.3.14. 横浜)

平井洋平 組織形態の精密な調節を担う分子について 京都大学再生医科学研究所 学術講演会(2007.12.26. 京都)

技 術 部

Division of Technical Support

【研究支援概要】

再生医科学研究所における研究支援の一環として、病理組織標本作製を行っている。2007年1月より12月末までに13分野305件と着実に利用されてきた。

マウス胎児の連続切片組織標本作製等、再生実験における特殊な組織標本作製を行うなど、各々の研究者の方の要望に応じてきた。

- ・パラフィン切片作製、凍結切片作製、ブロックの作製、脱灰標本の作製
- ・一般染色(Hematoxylin-Eosin stain)
- ・特殊染色(Azan stain, Alcian blue stain, Berlin blue stain, Dahl's method, Elastica-Van Gieson stain, Giemsa stain, Kluver-Barrera stain, Masson's trichrome stain, Maxwell's stain, Nissl's stain, PTAH, Toluidine blue stain, Safranin O-Fast green stain, Villanueva bone stain, von Kossa's method, Silver stain)
- ・免疫染色(α SMA, Desmin, vWF VIII, Vimentin, CD68, CD31, EP2, Collagen type-I, Type-II, MAP2 等)

一方、自己研鑽として京都大学技術職員研修(専門、総合)、実験病理組織技術研究会第14回総会・学術集会、および関西西部会技術研修会、第21回老化促進モデルマウス(SAM)研究協議会、大阪大学産業科学研究所第20回技術室報告会に参加し、情報収集や技術交流をおこなってきた。

また、衛生管理者として、化学物質管理やメンタルヘルス、メタボリック対策について等、種々の研修を受けてきた。

【業 績 目 録】

◆ 誌上発表 ◆

Korenaga T., Yan, J., Sawashita J., Matsushita, T., Naiki H., Hosokawa, M., Mori M., Higuchi K. Fu X. : Transmission of amyloidosis in offspring of mice with AApoAII amyloidosis, Am. J. Pathol. 168 : 898-906 (2006)

◆ 学会、研究会発表 ◆

梅澤真樹子, 阿部稚里, 樋口京一, 松下隆寿, 細川昌則 : SAMP1 における食事性脂肪による老化制御, 第22回老化促進モデルマウス(SAM)研究協議会(2007.7.26~27)

4. ナノメディシン融合教育ユニット

Nano-Medicine Merger Education Unit

ナノメディシン融合教育ユニットは、ナノテクノロジーとライフサイエンス、並びに医学が融合して初めて実現できる「ナノメディシン」という新しい先端医工学領域において、将来、産学官で活躍できる人材を育成することを目的として開設された教育組織です。

このユニットは京都大学の部局を横断した組織として位置づけられ、医学研究科、工学研究科及び再生医科学研究所が互いに連携しながら運営されます。教育においては既存の研究科・専攻という教育体系の枠組みを越えて、京都大学の豊富な教員スタッフと新たに採用された特任教員とが融合教育ユニットを形成してプログラムをコーディネートし、基礎知識、基礎技術の実習教育、研究指導に当たります。

既に産官で研究者、技術者として活躍されている社会人にナノメディシンに関する基礎知識を講義により提供するとともに、基礎実習及び演習などの実技による再教育を行います。これにより、新領域において問題解決能力をもつ人材へと育成します。

また、神戸バイオテクノロジー研究・人材育成センターにおいては、再生医科学研究所より、機材の提供・スタッフの派遣を行います。ハードソフトの両面からのサポートを行うことにより、本ユニットの活動を通じて、神戸医療産業都市構想の推進に寄与するものでもあります。

We are proud of foundation of Nano-Medicine Merger Education Unit, which is an educational organization with the aim of nurturing talented experts who can drive translational research, display issue-solving ability, and create next-generation industry in terms of “nano-medicine” generated only by merger of nano-technology, life science, and medicine.

The unit is crossing over Graduate School of Medicine, Graduate School of Engineering, and Institute for Frontier Medical Sciences to make abundant human resources of Kyoto University and new designated researchers grow together, as the result of which we can provide coordinated and fundamental education programs efficiently.

It is an ultimate goal of this unit to contribute to nurturing talent with issue-solving ability in new fields by providing practice and basic lecture about nano-medicine for experts in engineering and research in a specific field.

The essential role of Institute for Frontier Medical Sciences concerned with the activity of this unit in Kobe Biotechnology Research and Human Resource Development Center is providing machinery, materials and staff, which means comprehensive support of hard- and software. It is a pleasure that we can contribute to the promotion of Kobe Medical Industry Development Project through the activity of this unit.

5. 学術集会

5-1(1) 再生医療に関する京都大学再生医科学研究所 国際シンポジウム

International Symposium on Regenerative Medical Therapy (Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University)

日時：2007年9月19日(水)20日(木)

会場：芝蘭会館 稲盛ホール 京都市左京区吉田近衛町京都大学医学部構内北側 TEL：075-753-9336

September 19, 2007 (Wed.)

Welcome remark, Prof. Hiroshi Matsumoto

(The Executive Director of Kyoto University)

Welcome remark, Prof. Norio Nakatsuji

(The Director of Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University)

Chairperson : Prof. Kazuhiro Nagata

(Department of Molecular and Cellular Biology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University)

The chemokine CXCL12-CXCR4 signaling and niches for hematopoietic stem cells and B lymphocytes

Prof. Takashi Nagasawa (Department of Immunobiology and Hematology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University)

Neurogenesis : a key for brain development and maintenance

Prof. Noriko Osumi (Division of Developmental Neuroscience, Tohoku University Graduate School of Medicine)

Roles of ADAM proteases in development of cardiovascular system

Prof. Atsuko Sehara-Fujisawa (Department of Growth Regulation, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University)

The stress of misfolded proteins : a systems approach to neurodegenerative disease and aging

Prof. Richard I. Morimoto (Department of Biochemistry, Molecular Biology and Cell Biology, Northwestern University, USA)

Chairperson : Prof. Yasuhiko Tabata

(Department of Biomaterials, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University)

Induction of pluripotency by defined factors

Prof. Shinya Yamanaka (Department of Stem Cell Biology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University)

Engineering of tissue not scar

Prof. Jöns Hilborn (Department of Materials Chemistry, Uppsala University, Sweden)

Tissue engineering approach to treat type I diabetes

Prof. Hiroo Iwata (Department of Reporative Materials, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University)

Poster Session

Reception

September 20, 2007 (Thur.)

Chairperson : Prof. Yuji Hiraki

(Department of Cellular Differentiation, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University)

Nanobiotechnology to investigate spatial control of cellular responses

Prof. Barbara A. Baird (Department of Chemistry & Chemical Biology, Cornell University, USA)

Understanding and maintaining human embryonic stem cells

Prof. Martin Pera (Center for Stem Cell and Regenerative Medicine, University of Southern California, USA)

A new model for development of hematopoietic stem cell

Group Director, Shin-Ichi Nishikawa (Laboratory for Stem Cell Biology, Center for Developmental Biology, Riken)

Human ES cell lines for biomedical research and drug discovery

Prof. Norio Nakatsuji (Department of Development and Differentiation, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University)

Closing remark, Prof. Shimon Sakaguchi

(Department of Experimental Pathology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University)

Poster Session

POSTER 1

CHONDROMODULIN-1 INHIBITS MIGRATION OF VASCULAR ENDOTHELIAL CELLS IN A CELL-TYPE SPECIFIC MANNER

Shigenori Miura¹, Jun Kondo², Chisa Shukunami¹, Kaori Mitsui², and Yuji Hiraki¹

¹Department of Cellular Differentiation, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

²Mitsubishi-Tokyo Pharmaceuticals Inc. Yokohama Research Center

POSTER 2

REGULATION OF THE DUAL ANGIOGENIC SWITCHING IN ENDOCHONDRAL BONE FORMATION

Aki Takimoto, Yuriko Nishizaki, Yuji Hiraki, and Chisa Shukunami

Department of Cellular Differentiation, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

POSTER 3

MAINTENANCE OF THE HEMATOPOIETIC STEM CELL POOL BY CXCL12-CXCR4 CHEMOKINE SIGNALING IN BONE MARROW STROMAL CELL NICHES

Tatsuki Sugiyama, Hiroshi Kohara, Mamiko Noda, and Takashi Nagasawa

Department of Immunobiology and Hematology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

POSTER 4

ANALYSIS OF MACRO-ENCAPSULATED ISLETS USING POLYVINYL ALCOHOL (PVA)

Zhi Qi, Meirigeng Qi, Naoaki Sakata, Chizuru Yamamoto, Goichi Yanai, Akihito Hiura, Shoichiro Sumi, and Kazutomo Inoue

Department of Organ Reconstruction, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

POSTER 5

STUDIES ON ELECTRO-FUSION OF MESENCHYMAL STEM CELLS AND PANCREATIC ISLET-CELLS

Yanai Goichi¹, Hayashi Takashi², Qi Zhi¹, Hiura Akihito¹, Sumi Shoichiro¹, Inoue Kazutomo³, Shimabukuro Takashi⁴

¹Department of Organ Reconstruction, Institute for Frontier Medical Science, Kyoto University

²Gakkenntoshi Hospital

³Inoue Clinic Diabetes Center

⁴Juho Rehabilitation Hospital

POSTER 6

GERM-LINE COMPETENCY OF MOUSE INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS SELECTED FOR NANOG EXPRESSION

Keisuke Okita¹, Tomoko Ichisaka^{1,2}, and Shinya Yamanaka^{1,2}

¹Department of Stem Cell Biology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

²CREST, Japan Science and Technology Agency

POSTER 7

NON-CLASSICAL EXPORT OF A MORPHOGEN EPIMORPHIN

Kyoko Yamazaki¹, Benjamin Madden², Derek C. Radisky³, and Yohei Hirai¹

¹Institute for Frontier Medical Sciences, Department of Morphoregulation, Kyoto University

²Mayo Clinic Proteomics Research Center

³Mayo Clinic Cancer Center

POSTER 8

OVEREXPRESSION OF EXTRACELLULAR EPIMORPHIN LEADS TO IMPAIRED EPIDERMAL DIFFERENTIATION IN HaCaT KERATINOCYTES

Yoji Okugawa and Yohei Hirai

Department of Morphoregulation, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

POSTER 9

CONTRIBUTION OF BONE MARROW-DERIVED MESENCHYMAL CELLS TO BONE REGENERATION INDUCED BY BMP-2 RELEASE

Yu Kimura¹, Nobuhiko Miyazaki¹, Naoki Hayashi¹, Satoshi Otsuru², Katsuto Tamai², Yasufumi Kaneda², and Yasuhiko Tabata¹

¹Department of Biomaterials, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

²Department of Gene therapy, Graduate School of Medicine, Osaka University

POSTER 10

REGENERATION OF ANTERIOR CRUCIATE LIGAMENT BY BIODEGRADABLE SCAFFOLD COMBINED WITH LOCAL CONTROLLED RELEASE OF BASIC FIBROBLAST GROWTH FACTOR AND COLLAGEN WRAPPING

Yuta Kimura^{1,2}, Akishige Hokugo¹, Tomoaki Takamoto¹, Hisashi Kurosawa², and Yasuhiko Tabata¹

¹Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University, Research Center for Biomedical Engineering

²Department of Orthopedic Surgery, School of Medicine, Juntendo University

POSTER 11

PREPARATION OF IRON OXIDE NANOPARTICLES WITH DIFFERENT SIZES AND SURFACE POTENTIALS FOR MRI LABELING OF STEM CELLS

Jun-ichiro Jo and Yasuhiko Tabata

Department of Biomaterials, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

POSTER 12

RNA APTAMER AS A MOLECULAR TOOL FOR ANALYZING THE PROTEIN-PROTEIN INTERACTION

Ken-ichi Hohmura and Kazunori Hirayoshi

Department of Ultrastructural Research, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

POSTER 13

AUTOMATICITY AND ION CHANNELS IN CARDIOMYOCYTES DERIVED FROM EMBRYONIC STEM CELLS

Hideki Uosaki¹, Genta Narazaki¹, Kentoku Yanagi², Makoto Takano³, Takuhiro Hoshino¹, Takahiro Ishii⁴, Takurou Misaki², and Jun K Yamashita¹

¹Laboratory of Stem Cell Differentiation, Stem Cell Research Center, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

²First Department of Surgery, University of Toyama Graduated School of Medicine

³Department of Physiology, Jichi Medical University

⁴Department of Physiology and Biophysics, Kyoto University Graduate School of Medicine

POSTER 14

FORCED EXPRESSION OF ID2 IN FETAL THYMIC T CELL PROGENITORS ALLOWS SOME OF THEIR PROGENY TO ADOPT NK CELL FATE

Shinji Fujimoto¹, Tomokatsu Ikawa¹, Tatsuo Kina¹, and Yoshifumi Yokota²

¹Department of Immunology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

²Department of Biochemistry, School of Medicine, Fukui University

POSTER 15

MENINGEAL CELLS INDUCE DOPAMINERGIC NEURONS FROM MOUSE EMBRYONIC STEM CELLS

Hideki Hayashi^{1,2}, Asuka Morizane², Masaomi Koyanagi², Yoshiki Sasai³, Nobuo Hashimoto², and Jun Takahashi^{1,2}

¹Department of Biological Repair, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

²Department of Neurosurgery, Clinical Neuroscience, Kyoto University Graduate School of Medicine

³Organogenesis and Neurogenesis Group, Center for Developmental Biology, RIKEN, Kobe

POSTER 16

MOLECULAR ROLES OF Nanog IN MOUSE GERM CELL DEVELOPMENT

Shinpei Yamaguchi¹, Hiroyuki Sasaki², Norio Nakatsuji³, and Takashi Tada¹

¹Department of Stem Cell Engineering, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

²Division of Human Genetics, National Institute of Genetics

³Department of Development and Differentiation, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

POSTER 17

CYTOSOLIC CHAPERONIN CCT PREVENTS NEURONAL CELL DEATH WITH ALTERING POLYGLUTAMINE OLIGOMERIC AGGREGATE FORMATION

Akira Kitamura¹, Hiroshi Kubota¹, Masataka Kinjo², Richard I. Morimoto³, and Kazuhiro Nagata¹

¹Department of Molecular and Cellular Biology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

²Laboratory of Molecular Cell Dynamics, Graduate School of Life Science, Hokkaido University

³Department of Biochemistry, Molecular Biology and Cell biology, Northwestern University

POSTER 18

A NOVEL THIOL REDUCTASE, ERdj5, IS REQUIRED FOR ER-ASSOCIATED DEGRADATION OF MISFOLDED PROTEINS

Ryo Ushioda¹, Jun Hoseki¹, Kazutaka Araki¹, Gregor Jansen², David Thomas², and Kazuhiro Nagata¹

¹Department of Molecular and Cellular Biology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

²Biochemistry Department, Faculty of Medicine, McGill University, Montréal, Canada

POSTER 19

REGULATION OF RETROELEMENT EXPRESSION AND GENOMIC DNA METHYLATION BY TDRD9/SPN-E IN THE GERMLINE

Masanobu Shoji¹, Takashi Tanaka¹, Kouichi Kitamura¹, Mihoko Hosokawa¹, Yuzuru Kato², Gen Kondoh¹, Katsuya Okawa³, Hiroyuki Sasaki², Shinichiro Chuma¹, and Norio Nakatsuji¹

¹Institute for Frontier Medical Science, Kyoto University ; ²Division of Human Genetics, National Institute of Genetics ; ³Bio-molecular characterization unit, HMRO, Kyoto University

POSTER 20

SUSTAINED ACTIVATION OF MYC INDUCES DIFFERENTIATION AND CELL DEATH IN HUMAN EMBRYONIC STEM CELLS

Tomoyuki Sumi¹, Norihiro Tsuneyoshi^{1,2}, Norio Nakatsuji^{1,2}, and Hirofumi Suemori¹

¹Laboratory of Embryonic Stem Cell Research, Stem Cell Research Center, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

²Department of Development and Differentiation, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

POSTER 21

TRANSPLANTATION OF EMBRYONIC STEM CELL-DERIVED ENDODERMAL CELLS INTO MICE WITH INDUCED LETHAL LIVER DAMAGE

Takamichi Ishii^{1,2}, Kentaro Yasuchika², Takafumi Machimoto², Hirofumi Suemori¹, Norio Nakatsuji^{1,3}, Michiko Saito⁴, Kenji Kohno⁴, Shinji Uemoto², and Iwao Ikar²

¹Laboratory of Embryonic Stem Cell Research, Stem Cell Research Center, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

²Department of Surgery, Graduate School of Medicine Kyoto University

³Department of Development and Differentiation, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

⁴Graduate School of Biological Sciences, Nara Institute of Science and Technology (NAIST)

POSTER 22

EXPRESSION OF P16INK4A GENE IS ASSOCIATED WITH SENESENCE OF HUMAN MESENCHYMAL STEM CELLS, AND SILENCED BY DNA METHYLATION DURING IN VITRO EXPANTION

Tomoki Aoyama, Kotaro R Shibata, and Junya Toguchida

Department of Tissue regeneration, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

POSTER 23

APPROACH TO SURFACE MARKERS OF HUMAN MESENCHYMAL STEM CELLS USING IMMORTALIZED HUMAN BONE MARROW STROMAL CELLS

Kenichi Fukiage¹, Tomoki Aoyama¹, Kotaro R. Shibata¹, Seiji Otsuka¹, Moritoshi Furu¹, Takashi Nakamura², and Junya Toguchida¹

¹Department of Tissue Regeneration, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

²Department of Orthopedic Surgery, Kyoto University

POSTER 24

MICRODOMAINS AND MEMBRANE-SKELETON-INDUCED COMPARTMENTS AS STUDIED BY SINGLE-MOLECULE TRACKING OF GPI-ANCHORED PROTEINS AND A PHOSPHOLIPID

Kenichi Suzuki¹, Takahiro Fujiwara¹, Michael Edidin², and Akihiro Kusumi¹

¹The Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University, ICORP-JST

²Department of Biology, The Johns Hopkins University, Baltimore 21218.

POSTER 25

CONTROL OF IMMUNE RESPONSES BY ANTIGEN-SPECIFIC REGULATORY T CELLS EXPRESSING THE FOLATE RECEPTOR 4

Tomoyuki Yamaguchi and Shimon Sakaguchi

Department of Experimental Pathology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

POSTER 26

DESIGN OF CHIMERIC PROTEINS FOR CONTROLLING NEURAL CELL FUNCTIONS IN COLLAGEN SCAFFOLDS

Koichi Kato¹, Hiroko Miyazaki¹, Yuji Teramura², and Hiroo Iwata¹

¹Department of Reporative Materials, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

²Department of Polymer Chemistry, Graduate School of Engineering, Kyoto University

POSTER 27

MICROENCAPSULATION OF ISLETS WITHIN ULTRA-THIN MEMBRANES OF POLY(VINYL ALCOHOL)

Yuji Teramura¹, Yoshihiro Kaneda², and Hiroo Iwata²

¹Department of Polymer Chemistry, Graduate School of Engineering, Kyoto University

²Department of Reporative Materials, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

POSTER 28

HEALING EFFECTS OF EGCG ON BURN WOUNDS IN MICE

Hak Hee Kim¹, Takeshi Kawazoe², Shigehiko Suzuki², Kazuaki Matsumura¹, Sadami Tsutsumi¹, and Suong-Hyu Hyon¹

¹Department of Medical Simulation Engineering, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

²Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Graduate School of Medicine, Kyoto University

POSTER 29

CYTOPROTECTIVE EFFECT OF EPIGALLOCATECHIN-3-GALLATE IN NEONATAL HUMAN TARSAL FIBROBLASTS

Jung Yoon Bae, Dong-Wook Han, Jun Kanamune, Sadami Tsutsumi, and Suong-Hyu Hyon

Department of Medical Simulation Engineering, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

POSTER 30

APPLICATION OF EPIGALLOCATECHIN GALLATE-RELEASING POLY(L-LATIDE-co-ε-CAPROLACTONE) TO DRUG ELUTING STENTS : ATTENUATED BEHAVIORS OF VASCULAR SMOOTH MUSCLE CELLS AND PLATELETS

Hanhee Cho, Dong-Wook Han, Kazuaki Matsumura, Sadami Tsutsumi, and Suong-Hyu Hyon

Department of Medical Simulation Engineering, Research Center for Nano Medical Engineering, Institute for Frontier Medical

Sciences, Kyoto University

POSTER 31

REGENERATION OF CENTRAL NERVOUS TISSUE USING A COLLAGEN SCAFFOLD AND ADIPOSE-DERIVED STROMAL CELLS

Akira Nakada, Seijun Fukuda, Satoshi Ichihara, Shin-ichi Itoi, Yuji Inada, Katsuaki Endo, and Tatsuo Nakamura
Department of Bioartificial Organs, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

POSTER 32

A TISSUE-ENGINEERED PROSTHESIS FOR THE REPLACEMENT OF THE LEFT MAIN BRONCHUS

Toshihiko Sato, Masato Araki, Satoshi Ichihara, Seijun Fukuda, and Tatsuo Nakamura
Department of Bioartificial Organs, Institute for Frontier Medical Science, Kyoto University

POSTER 33

DEVELOPMENT OF NEW NERVE GUIDE TUBE FOR LONGER NERVE DEFECTS

Satoshi Ichihara^{1,2}, Yuji Inada¹, Akira Nakada¹, Katsuaki Endo¹, Takashi Azuma³, Ryusuke Nakai³, Sadami Tsutsumi³, Hisashi Kurosawa², and Tatsuo Nakamura¹

¹Department of Bioartificial Organs, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

²Department of Orthopedics Surgery, School of Medicine, Juntendo University

³Department of Medical Simulation Engineering, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

POSTER 34

APPLICATIONS OF LASER WELDING TO TITANIUM DENTAL PROSTHESES

Toshihiro Togaya
Department of Nano Biomechanism, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

POSTER 35

THE VERTEBRATE PHYLOTYPIC STAGE AND AN EARLY BILATERIAN-RELATED STAGE IN MOUSE EMBRYOGENESIS DEFINED BY GENOMIC INFORMATION

Naoki Irie and Atsuko Sehara-Fujisawa
Department of Growth Regulation, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

POSTER 36

ROLE OF MEMBRANE-BOUND PHOSPHOLIPASE UPON EARLY MOUSE EMBRYOGENESIS

Hiromasa Takemura^{1,2}, Hiromasa Tojo², and Gen Kondoh¹

¹Laboratory of Animal Experiments for Regeneration, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University

²Department of Molecular Physiological Chemistry, Osaka University Medical School

5－1(2) 京都大学再生医科学研究所平成19年度学術講演会

(2007.12.26 芝蘭会館稲盛ホール)

開会の挨拶

研究所長・生体機能調節学分野・教授 坂口志文

第1部

「小胞体におけるタンパク質品質管理機構」

細胞機能調節学分野・教授 永田和宏

「組織形態の精密な調節を担う分子について」

組織分化制御学研究部門・(寄附研究部門)・特任准教授 平井洋平

「1分子追跡で見る細胞膜上のシグナル変換機構」

ナノバイオプロセス研究領域・教授 楠見明弘

第2部

「再生医療のためのバイオマテリアル技術」

生体材料学分野・教授 田畑泰彦

「骨・軟骨再生医療における臨床応用」

東京大学大学院医学系研究科・医学部 外科学専攻
感覚・運動機能医学講座 口腔外科学・教授 高戸 毅

第3部

「造血幹細胞を守る冬眠の機構とニッチシグナル」

東京大学医科学研究所 ヒト疾患モデル研究センター
高次機能(幹細胞治療)研究分野・教授 中内啓光

「ゲノム再プログラム化と細胞融合幹細胞」

幹細胞加工研究領域・准教授 多田 高

「ES細胞移植によるパーキンソン病治療法の開発」

生体修復応用分野・准教授 高橋 淳

閉会の挨拶

生体材料学分野・教授 田畑泰彦

5-2 セミナー

開催日	講演者・所属	演 題	セミナー名	主催分野
2007. 1.19	古谷一清木 誠 科学技術振興機構 SORST 近藤研究チーム	メダカ・ゼブラフィッシュを統合した新しい脊椎動物モデル系による臓器構築機構の解析	再生医科学研究所特別セミナー	生体分子設計学分野
2007. 1.30	貫名 信行 理化学研究所脳科学総合研究センター	ポリグルタミン病の分子メカニズム	第 135 回細胞生物学セミナー	細胞機能調節学分野
2007. 3. 5	渋谷 周作 Department of Biology, University of North Carolina at Chapel Hill	Rb-independent termination of E2F-target gene expression during Drosophila embryogenesis	ナノバイオプロセス研究領域セミナー	ナノバイオプロセス研究領域
2007. 3.15	鈴木 健之 京都大学大学院医学研究科 先端領域融合医学研究機構 がん遺伝グループ	ウイルス挿入変異による新しいがん分子標的の探索	第 10 回再生誘導セミナー	再生誘導研究分野
2007. 3.16	今井 賢治 東海大学医学部 基礎医学系 分子生命科学	脊柱形成における硬節細胞分化を制御する分子メカニズムの解析	生体分子設計学分野セミナー	生体分子設計学分野
2007. 3.22	Yasuhiro Sawada Department of Biological Sciences, Columbia University	メカニカルストレス信号伝達メカニズムの解明: Src ファミリーキナーゼの基質 p130Cas の伸張を介するメカノセンシング	生体分子設計学分野セミナー	生体分子設計学分野
2007. 3.23	近藤 淳 三菱ウェルファーマ株式会社 創薬本部研究部門探索研究所 プロテオミクスグループ	哺乳動物の冬眠 ー低体温を生きるー	生体分子設計学分野セミナー	生体分子設計学分野
2007. 7. 6	Richard Morimoto (Northwestern Univ., USA)	Protein Misfolding in Aging and Neurodegenerative Disease	第 136 回細胞生物学シリーズセミナー(1)ーMinicourse on Chaperone Networks, Stress Responses, Aging & Neurodegenerative Diseaseー	細胞機能調節学分野
2007. 7.12	Richard Morimoto (Northwestern Univ., USA)	Chaperone Networks in Biology and Disease	第 136 回細胞生物学シリーズセミナー(2)ーMinicourse on Chaperone Networks, Stress Responses, Aging & Neurodegenerative Diseaseー	細胞機能調節学分野
2007. 7.20	Richard Morimoto (Northwestern Univ., USA)	The Heat Shock Response	第 136 回細胞生物学シリーズセミナー(3)ーMinicourse on Chaperone Networks, Stress Responses, Aging & Neurodegenerative Diseaseー	細胞機能調節学分野
2007. 8. 1	桔梗 伸明 米国ミネソタ大学幹細胞研究所	卵の細胞質による体細胞核のリモデリングの解析	第 11 回再生誘導セミナー	再生誘導研究分野
2007. 9. 1	Katharina Gaus Centre for Vascular Research, School of Medical Sciences, University of New South Wales	Membrane structure at T cell activation sites and immunological synapses	ナノバイオプロセス研究領域セミナー	ナノバイオプロセス研究領域

開催日	講演者・所属	演 題	セミナー名	主催分野
2007. 9. 4	田賀 哲也 熊本大学発発生医学研究センター	神経幹細胞の運命付けを制御する細胞内シグナル経路群の相互作用	第 12 回再生誘導セミナー	再生誘導研究分野
2007. 9.10	Wonhwa Cho Department of Chemistry, University of Illinois in Chicago	Expanding Roles of Lipids in Cell Signaling and Membrane Trafficking	ナノバイオプロセス研究領域セミナー	ナノバイオプロセス研究領域
2007.10. 3	Godfried W van der Heijden (Carnegie Institution, USA)	Not So Static After All: Massive Nucleosome Replacement in the Sex Body during Male Meiosis	発生分化研究分野セミナー	発生分化研究分野
2007.10. 4	Jurgen Roth (University of Zurich, Switzerland)	Protein Quality Control: Subcellular Changes Caused by Misfolded Proteins	第 137 回細胞生物学セミナー	細胞機能調節学分野
2007.10.31	Dominique Bonnet London Research Institute, Cancer Research UK	Heterogeneity of the human hematopoietic stem cell compartment	生体システム制御学分野セミナー	生体システム制御学分野
2007.11. 9	Phoebe S Leboy University of Pennsylvania	Mechanisms of BMP action in Bone Formation	生体分子設計学分野特別セミナー	生体分子設計学分野
2007.11.14	向山 洋介 Principal Investigator, Genetics and Developmental Biology Center, National Heart, Lung, and Blood Institute, National Institutes of Health, USA	Neuro-vascular interactions: 末梢神経主導の血管網形成のダイナミズム	生体システム制御学分野セミナー	生体システム制御学分野
2007.11.21	Kathryn SE Cheah (University of Hong Kong)	Procollagen IIA modulates BMP control of heart morphogenesis	第 138 回細胞生物学セミナー	細胞機能調節学分野
2007.11.22	松本 邦夫 金沢大学がん研究所 腫瘍動態制御研究分野	HGF-Met 系を介した再生制御と NK4 による制癌: メカニズムと意義	生体分子設計学分野セミナー	生体分子設計学分野
2007.11.24	穴戸 昌彦 岡山大学大学院自然科学研究科	薬を見つけるケミカルバイオロジー	組織修復セミナー	組織修復材料学分野
2007.11.27	浅原 弘嗣 国立成育医療センター研究所 移植・外科研究部	3 次元 WISH データベース構築を機軸とした運動器発生分化メカニズムの解析	生体分子設計学分野特別セミナー	生体分子設計学分野
2007.12. 4	佐藤 靖史 東北大学加齢医学研究所 腫瘍循環研究分野	Vasohibin famiy: 血管新生の新しい調節系	生体分子設計学分野特別セミナー	生体分子設計学分野
2007.12. 6	岩間 厚志 千葉大学大学院医学研究院細胞分子医学	造血幹細胞機能のエピジェネティクス制御	生体システム制御学分野セミナー	生体システム制御学分野
2007.12.19	Daniel Choquet CNRS UMR 5091 Université de Bordeaux	Brighter and smaller: the indefinite quest for better single molecule probes	ナノバイオプロセス研究領域セミナー	ナノバイオプロセス研究領域
2007.12.19	Gaudenz Danuser Laboratory for Computational Cell Biology, Department of Cell Biology, The Scipps Research Institute	Integration of mechanical and chemical signals in epithelial cell migration	ナノバイオプロセス研究領域セミナー	ナノバイオプロセス研究領域

5－3 研究発表会

第3回再生医科学研究所 若手発表会プログラム(2007年3月29日開催 東館5階 ルーフテラス)

発表者	所属	演題名
市 原 理 司	臓器再建応用分野	末梢神経再建のための人工神経
沖 田 圭 介	再生誘導研究分野	第2世代 iPS 細胞の開発
鬼 頭 昭 彦	生体機能調節学分野	SLAM と制御性 T 細胞
伊 藤 錦 哉	組織再生応用分野	MSC 抽出技術の開発
中 井 隆 介	シミュレーション医学研究領域	DiffusionMRI を使用した生体組織機能の高精度評価法の開発
廣 澤 幸一朗	ナノバイオプロセス研究領域	パターン化抗原膜基板を用いた IgE 受容体を介する信号伝達機構の研究
田 中 賢 治	ナノバイオプロセス研究領域	細胞膜上のラフトマイクロドメインの1分子追跡による研究
柴 田 昭 裕	ナノバイオプロセス研究領域	細胞内シグナル分子 Rac1 の活性化サイクルの1分子可視化
吹 上 謙 一	組織再生応用分野	不死化 MSC を用いた MSC 表面マーカーへのアプローチ
毛 利 公 美	生体分子設計学分野	Paired box gene 1 (Pax1) は軟骨分化を抑制する
長 澤 孝 治	細胞機能調節学分野	小胞体関連分解機構における小胞体膜タンパク質複合体 TRAP の機能解析
奥 川 洋 司	組織分化制御学研究部門	エピモルフィンと表皮分化制御
城 潤 一 郎	生体材料学分野	遺伝子治療効果を増強させるドラッグデリバリー技術の開発
漆 智	器官形成応用分野	PVA マクロカプセル化膵島の研究
中 路 正	組織修復材料学分野	増殖因子配向固定表面を用いた神経幹細胞の分化制御
曹 漢 姫	シミュレーション医学研究領域	緑茶ポリフェノールを用いたコラーゲンの架橋とその組織工学への応用
木 村 祐	生体材料学分野	生体組織の再生誘導に必要な足場・DDS 技術
寶 関 淳	細胞機能調節学分野	小胞体関連分解における新しい因子～ジスルフィド結合の切断を担う還元酵素 ERdj5
荒 木 政 人	臓器再建応用分野	呼吸器外科領域への新しい接着剤の応用
平 井 京 子	組織分化制御学研究部門	トリコヒアリン類似蛋白質 AHF の発現挙動

5－4 学術講演会・シンポジウム・研究会等

医工学フォーラムー2006 年度特別学術講演会ー

(2007.2.21 京大会館 医工学フォーラム会長 岩田博夫)

開会の挨拶

医工学フォーラム会長 岩田 博夫

講演

1. DDS 技術を利用した血管新生誘導治療の現状……………田畑 泰彦(生体材料学分野)
2. 脳血管内治療用デバイスの開発 ……………○岩田 博夫(組織修復材料学分野)、滝 和郎(三重大学脳神経外科)
3. インクジェット法による臨床用 DNA マイクロアレイの開発……………
山本 伸子(キャノン(株)コアテクノロジー開発本部 LS プロジェクト)
4. 再生軟骨組織の物性・構造に関する非侵襲的計測法……………
堤 定美(ナノ再生医工学研究センターシミュレーション医工学研究領域)
5. 囲い込み培養、遠心培養、滑り環境培養による軟骨の再生とその摩擦特性評価……………
富田 直秀(国際融合創造センター・創造部門(生体・医療工学))
6. 1 分子追跡によって細胞膜のはたらきを解く……………楠見 明弘、○鈴木 健一
(ナノ再生医工学研究センター ナノバイオプロセス研究領域)
7. in situ Tissue Engineering の胸部外科への臨床応用……………中村 達雄(臓器再建応用分野)
8. ポリビニルアルコールによるマクロカプセル化臓器について……………角 昭一郎(器官形成応用分野)
9. 幹細胞を用いた臨床試験へのハードル……………戸口田 淳也(組織再生応用分野)

特別講演

医療機器開発を取り囲む環境ー日中米欧の現状ー……………小泉 和夫(財団法人 医療機器センター 専務理事)

京都大学再生医科学研究所 第 2 回公開講演会

再生医学の最先端研究ー医学と工学とのつながりー

日 時：平成 19 年 7 月 28 日(土) 午後 2 時 00 分～午後 4 時 10 分

場 所：京都大学百周年時計台記念館 1 階百周年記念ホール

開会挨拶

「シミュレーション医工学は面白い!？」

再生医科学研究所 堤 定美教授

「万能幹細胞とはなかに？」

再生医科学研究所 山中 伸弥教授

6. 協議員・教職員・その他構成員名簿

◆ 京都大学再生医科学研究所協議員(所外) ◆

塩田 浩平(京都大学大学院医学研究科教授)
中畑 龍俊(京都大学大学院医学研究科教授)
鍋島 陽一(京都大学大学院医学研究科教授)
伊藤 紳三郎(京都大学大学院工学研究科教授)
北村 隆行(京都大学大学院工学研究科教授)
西田 栄介(京都大学大学院生命科学研究科教授)

◆ 京都大学再生医科学研究所職員等(平成20年1月1日現在) ◆

所長(兼):坂口 志文 副所長(兼):戸口田 淳也

■ 生体機能学研究部門 ■

〈細胞機能調節学分野〉

教授:永田和宏 准教授:細川暢子 助教:久保田広志 産学官連携助教:寶関 淳
講師(非常勤):目加田英輔, 平岡 泰, 野地博行 技能職員:島田道子 教務補佐員:石田玉美, 金森和美
技能補佐員:中川澄江 技術補佐員:福田泰子
研修員:森戸大介 大学院生:北村 朗, 石田義人, 潮田 亮, 平山尚志郎, 新木和孝, 石川善弘, 杉浦仁美, 萩原誠智,
真砂有作, 森本宣光, 山谷 理

〈生体微細構造学分野〉

講師:平芳一法 研修員:法邑賢一

〈生体機能調節学分野〉

教授:坂口志文 助教:山口智之 産学官連携助教:小野昌弘 講師(非常勤):坂口教子, 清水 淳, 大倉永也
教務補佐員:森田博子 事務補佐員:高山みな
大学院生:鬼頭昭彦, 橋本 求, 島 友子, 前田伸治, 瓜生英尚, 吉岡弓子, 岸 歩美, 瀬藤和也, 野田裕美
クレスト派遣職員:Kajsa Wing 研究生:寺平 晋, Paz Prieto Martin

〈生体システム制御学分野〉

教授:長澤丘司 助教:杉山立樹 講師(非常勤):岩間厚志 研究員(COE):尾松芳樹 事務補佐員:佐藤瑞穂
研究員(科学研究):山田貴佑記
大学院生:小原洋志, 野田麻実子, 梶原 茜(休学中), 藤本七恵

〈生体再建学分野(国内客員)〉

准教授:池川志郎

■ 生体組織工学研究部門 ■

〈生体分子設計学分野〉

教授:開 祐司 准教授:宿南知佐 助教:近藤俊哉 講師(非常勤):近藤 淳, 鄭 雄一, 小守壽文, 今井賢治
教務補佐員:滝本 晶 事務補佐員:久保友紀恵 技術補佐員:杉山弘美
大学院生:杉本由紀, 毛利公美, 佐野寛子 研究員(科学研究):西崎有利子 研修員:三浦重徳

〈生体材料学分野〉

教授:田畑泰彦 助教:山本雅哉 講師(非常勤):原島秀吉, 中村雅也, 金田安史

日本学術振興会特別研究員：北郷明成 事務補佐員：馬場恭子

研修員：小俣和彦 大学院生：木村 祐，城潤一郎，劉 健，高本智紹，今村正明，小川源太郎，根来宏光，山村省吾，宮崎伸彦，小川敏弘，永根健太郎，林 直樹，吉田雅貴，高藤義正，谷郷智美，土井規央，炭多晃波，折口智哉

受託研究員：安部智之，堀内祥行，川上尚章 研究員(COE)：上田寛樹 民間等共同研究員：園田 浩

研究生：野口祐樹，高岡良平 日本学術振興会外国人特別研究員：Devang THAKOR，林 雪

＜組織修復材料学分野＞

教授：岩田博夫 准教授：加藤功一 講師(非常勤)：宇山良公

事務補佐員：鈴木義子

大学院生：中路 正，戸谷貴彦，川井田真一，乾 靖，平岡真希子，上田祐介，江田昇平，川越雅子，苗村祥太

産学官連携研究員：戸田満秋，井上祐貴 講師(研究機関研究員)：Njatawidjaja Ellyana 研修員：藤田 聡

研究生：EGAWA. Edgar Yuji 民間等共同研究員：滝口裕実

＜生体物性学分野 (国内客員)＞

教授：山本伸子

■ 再生統御学研究部門 ■

＜発生分化研究分野＞

教授：中辻憲夫 NEDO 講師：川瀬栄八郎 助教：中馬新一郎 研究員(科学研究)：細川美穂子

教務補佐員：森部江美子，*富山敦美 技術補佐員：田中ます子 事務補佐員：酒井睦美，廣富ひとみ

大学院生：田中 敬 民間等共同研究員：多田政子

＜再生誘導研究分野＞

教授：山中伸弥 産学官連携講師：段 孝 助教：中川誠人 産学官連携助教：高橋和利

CREST 技術員：一阪朋子，成田 恵 産学官連携研究員：小柳三千代 日本学術振興会特別研究員：沖田圭介，前川桃子

特任若手研究員：八戸宏二郎 教務補佐員：岡田亜紀，瀧澤奈々子 技能補佐員：飯塚當近 事務補佐員：井山諒子

派遣研究補助員：湍川 蘭 研究員(科学研究)：Marc P. A. Lewitzky CREST 研究補助員：加藤里絵

大学院生：青井貴之，今村公紀，坪岡則子，平野孝明，三浦恭子，岩渕久美子，梶原正俊，田邊剛士，中村友紀，

洪 炫禎，大貫茉莉，望月裕司

＜再生増殖制御学分野＞

教授：瀬原淳子 助教：栗崎知浩 講師(非常勤)：後藤由季子 研究員(COE)：飯田敦夫

講師(研究機関研究員)：越前谷美智子 産学官連携研究員：栗崎智美 日本学術振興会特別研究員：佐藤文規

事務補佐員：倉澤祥子 技術補佐員：黒田信子 教務補佐員：高塚志保

大学院生：入江直樹，湯本法弘，木村剛隆，坂口和弥，工藤寛明，木村祐介

＜再生免疫学分野＞

准教授：喜納辰夫 助教：藤本真慈

■ 再生医学応用研究部門 ■

＜生体修復応用分野＞

准教授：高橋 淳 研究員(COE)：林 英樹 事務補佐員：五味淵淑子 技術補佐員：窪田 慶

大学院生：土井大輔，菊地哲広，五味正憲，鷺田和夫，植村 真

＜組織再生応用分野＞

教授：戸口田淳也 助教：青山朋樹 民間等共同研究員：小林 明

事務補佐員：安田尚代，安藤嘉奈子 技術補佐員：上田路子

大学院生：吹上謙一，光野芳樹，布留守敏，伊藤錦哉，金 永輝，梶田洋一郎，那須 輝

〈器官形成応用分野〉

准教授：角 昭一郎 講師(非常勤)：砂村真琴，日裏彰人，小林直哉 講師(研究機関研究員)：漆 智
事務補佐員：菊地裕子
大学院生：柳井伍一，池之上悦子 研究生：星野順一

〈臓器再建応用分野〉

准教授：中村達雄 講師(非常勤)：早川克己，稲田有史，堀 義生，茂野啓示，萩原明於
技術補佐員：矢延聡枝，岡西泰永
大学院生：市原理司，佐藤寿彦，小林丈士
研究生：井上勝也，町口敏彦
研修員：松野智宣，井上祐利，中田 顕

〈再生医学応用流動分野〉

(欠員中)

■ 附属再生実験動物施設 ■

施設長(兼)：坂口志文 副施設長(兼)：戸口田淳也
准教授：近藤 玄 技術職員：出口央士
技能補佐員：古卿智英，人見博子，石丸英典，細田 勝，西山尚之，柴田 豊，山崎幸子，渡辺知子，田中正行，大川実穂，
藤田 章，井上 薫，竹明フサ
JST：谷 妙子(研究補助員) 技術補佐員：折橋 郁，渡邊仁美，木本 実

■ 附属幹細胞医学研究センター ■

センター長(兼)：中辻憲夫

〈霊長類胚性幹細胞研究領域〉

准教授：末盛博文 産学官連携助教：角 智行 研究員(NEDO)：宮崎隆道，石井隆道
研究員(WPI)：*山内香織 教務補佐員：采女久実子，後藤律子 大学院生：安達啓子，福光 剣，恒吉法尋

〈幹細胞分化制御研究領域〉

准教授：山下 潤 大学院生：星野託広，檜崎元太，魚崎英毅，山水康平，藤原正隆，顔 培美，松永太一，寺西瑞恵
教務補佐員：村山千里 研究員(NEDO)：蟹江美奈

〈幹細胞加工研究領域〉

准教授：多田 高 教務補佐員：◇福地恵美
大学院生：松村寛行，山口新平，平野邦生，鬼塚文子

〈細胞プロセッシング研究領域(客員)〉

教授：高橋恒夫 准教授：古江 - 楠田美保
研究員(特別教育研究)(CPC 主任)：高田 圭 技術補佐員：濱生麻里

〈再プログラム化研究領域(客員)〉

教授：鳥居隆三

■ 附属ナノ再生医工学研究センター ■

センター長(兼)：堤 定美

〈ナノバイオプロセス研究領域〉

教授：楠見明弘 特任助教：鈴木健一，藤原敬宏 講師(非常勤)：諸根信弘
大学院生：石橋宗典，高橋英樹，西村博仁，梅村康浩，岡田拓也，木村秀貴，廣澤幸一郎，根本悠宇里，柴田明裕，田中賢治
研究生：Aaron Coutts 民間等共同研究員：岩沢こころ，本田郁子，笠井倫志，坂本晋子，吉村英哲，中田千枝子
JST(ICORP)技術員：坪井久恵，八原雅子，吉田聡子，土方博子，Sven Rasidi

教務補佐員：佐藤香子，*金政宏治，*藤原順子，加納千花子，*富永正江，*入谷真由子 技術補佐員：神谷保徳

オフィスアシスタント：今井 星，丁 中明

〈シミュレーション医工学研究領域〉

教授：堤 定美 准教授：玄 丞然 講師(非常勤)：南部敏之，茂木伸夫，菅原明喜，中島直喜 特任助教：松村和明

事務補佐員：上村幸代，小柴里美

大学院生：金 学嬉，曹 漢姫，李 英哲，中井隆介，蔡 毅，山本 宏，裴 庭胤，原田雅樹，手嶋晋太郎，猪熊宏幹，堀内 亮，中村淳一

日本学術振興会外国人特別研究員：韓 東旭 産学官連携研究員：姜 有峯，東 高志

研究生：井汲憲治，城真理子，田中正利

研修員：中村昌幸 教務補佐員：山口武志 受託研究員：三島昭宏

民間等共同研究員：須賀井一，近田英一，濱本 仁，岩瀬徹哉

〈ナノバイオメカニズム研究領域〉

助教：都賀谷紀宏

事務補佐員：上村幸代

〈再生医工学研究領域（外国人客員）〉

(欠員中)

■ 寄附研究部門 ■

〈組織分化制御学研究部門〉

特任准教授：平井洋平 特任助教：青野真也

民間等共同研究員：山本祥也，武田裕嗣，平井京子 事務補佐員：奥田由美子

テクニカルアシスタント：山崎恭子，奥川洋司

■ 技術部 ■

技術専門員：松下隆壽 技術専門職員：小岸久美子

■ 事務部 ■

事務長：山崎猛司

専門職員(総務グループ長)：簗谷文一 主任：坂 令子 事務補佐員：中瀬安子，戸倉理恵子，小山みさを

派遣職員：西田陽子 専門職員(経理グループ長)：北野和男 専門職員：福島慎吉 主任：三原一晃

事務職員：三浦真帆，勝 清香，西坂加奈 事務補佐員：戸嶋素子，緒方康子 派遣職員：太田裕美，鎌田亜希子

■ ナノメディシン融合教育ユニット ■

科学技術振興助教：外波弘之，◇寺村裕治，有馬祐介

教務補佐員：井上加代子

※ 物質-細胞統合システム拠点所属

◇ 工学研究科所属

Annual Report of the Institute for Frontier Medical Sciences
Kyoto University 2007

京都大学再生医科学研究所年報 2007

2008 年 3 月 18 日 印刷 2008 年 3 月 25 日発行

発 行 京都大学再生医科学研究所

京都市左京区聖護院川原町53 〒606-8507

印 刷 (株)北斗プリント社
